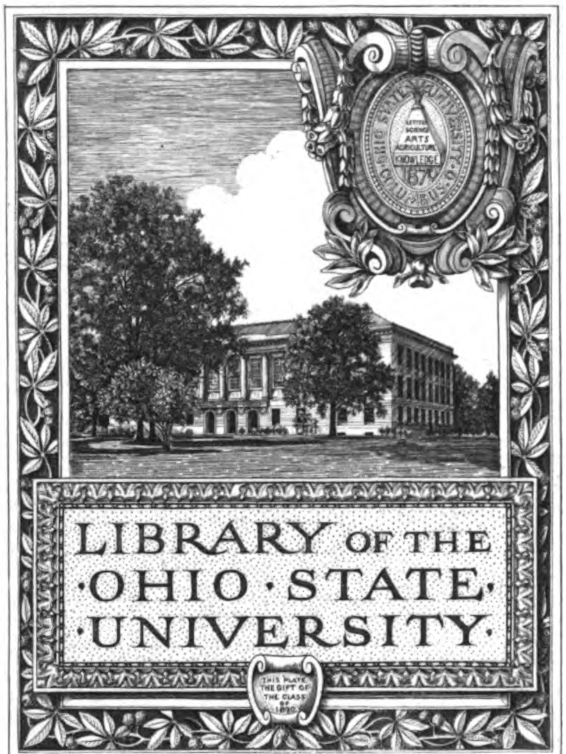

LIBRARY OF THE
·OHIO·STATE·
·UNIVERSITY·

ARCHIV FÜR HYGIENE

BEGRÜNDET VON MAX VON PETTENKOFER
FORTGEFÜHRT VON MAX RUBNER

UNTER MITWIRKUNG VON

Prof. Dr. R. ABEL, Jena; Prof Dr O. BAIL, Prag; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. DOERR, Basel; Prof. M. FICKER, Berlin-Dahlem; Prof Dr. R. GRASSBERGER, Wien Prof. Dr M. HAHN, Freiburg i. B.; Prof. Dr. L HEIM, Erlangen; Prof. Dr. W. KRUSE, Leipzig; Prof. Dr. Ph KUHN, Dresden; Prof Dr. A LODE, Innsbruck; Prof. Dr. R O NEUMANN, Bonn; Prof. Dr. L PFEIFFER, Schwerin; Prof Dr. W PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. A. SCHATTENFROH, Wien; Prof. Dr. P. SCHMIDT, Halle a. S.; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. W. WEICHARDT, Erlangen

HERAUSGEGEBEN VON

M. v. GRUBER · K. B. LEHMANN · P. UHLENHUTH

90. Band

Mit 3 Tafeln und 20 Abbildungen

MÜNCHEN UND BERLIN
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG
1922

Inhalt.

Studien zur Morphologie und Biologie der Trichophytiepilze. I.

Von

Privatdozent Dr. phil. et med. **Johann Hammerschmidt.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz [Vorstand Hofrat Prof. Dr. W. Prausnitz] und der dermatologischen Abteilung der Heilanstalt Graz-Eggenberg [Vorstand Prim. Dr. J. Pollak].)

(Mit 1 Tafel und 4 Textfiguren.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 21. August 1920.)

Die während des Krieges und besonders nachher zahlreicher, oft geradezu in epidemischer Ausbreitung auftretenden Trichophytien haben die Untersuchungsanstalten häufiger als früher vor die Aufgabe gestellt, Material von solchen Dermatomykosen auf die Erreger zu untersuchen und damit Morphologie und Biologie der letzteren mehr in den Vordergrund des Interesses gerückt. Ich hatte Gelegenheit, an dem reichen Material der Heilanstalt Eggenberg durch mehrere Monate alle neu zuwachsenden Trichophytien bakteriologisch zu untersuchen und dabei verschiedene Beobachtungen zu machen, über die ich im nachstehenden berichten will. Leider ist es schwer, aus der Literatur rasch und erschöpfend die für den Mikrobiologen nötigen Auskünfte zu erhalten, da gerade die morphologischen Details — die Biologie dieser interessanten Pilzflora ist überhaupt noch wenig erforscht — in den vorliegenden umfangreichen Arbeiten recht lückenhaft behandelt sind. Ich will daher nebenbei, um anderen Untersuchern diese Mühe des Zusammensuchens zu ersparen, diese Lücke auszufüllen versuchen.

Was zunächst die Literatur betrifft, so kommen für unsere Zwecke an zusammenhängenden Darstellungen außer dem großen, aber etwas weitschweifig geschriebenen Werke Sabourauds „Les Teignes" an deutschen Arbeiten die Zusammenstellungen von Plaut im „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen" (Kolle und Wassermann) und im „Handbuch der Hautkrankheiten" (Mraček) und in letzter Zeit der Atlas von Stein „Die Fadenpilzerkrankungen des Menschen" (Lehmanns medizinische Atlanten) in Betracht. Diese deutschen Bearbei-

tungen des Gebietes haben den Nachteil, daß sie einerseits nur größere oder kleinere Auszüge des Sabouraudschen Handbuches sind, andererseits, da sie teilweise auch andere Hyphenpilze in den Kreis ihrer Betrachtungen ziehen, es vielfach an der für Nachschlagezwecke nötigen Klarheit vermissen lassen.

Die Trichophytonpilze und ebenso die ihnen nahe verwandten Erreger der beiden anderen wichtigen Dermatomykosen: der Mikrosporon- und der Favuspilz gehören zwar zur großen Unterabteilung der Fungi und unter diesen wieder zu den eigentlichen Pilzen, den Eumyzeten, da sie durch den Besitz von septierten Hyphenfäden ausgezeichnet sind, doch sind sie — vielleicht durch ihre langwährende Anpassung an die parasitären Verhältnisse am tierischen Körper — so weit verändert, daß es unmöglich ist, sie in einer der bestehenden Unterabteilungen der Eumyzeten unterzubringen; fehlen ihnen doch die für die Hauptgruppen der Eumyzeten charakteristischen Fruktifikationsvorgänge, auf die sich die Einteilung der Pilze vielfach gründet. Diesen Mangel teilen sie aber noch mit zahlreichen anderen Vertretern dieser großen Pilzgruppe. Da es also unmöglich war, alle diese Arten einwandfrei im System unterzubringen, hat man aus dieser Verlegenheit heraus eine Gruppe der sog. „Fungi imperfecti" geschaffen, in der das bunte Gemisch dieser heterogenen Arten unter ein provisorisches Dach zusammengefaßt wird, bis es gelingt, dem einen oder anderen von ihnen seine sichere Stellung im System anzuweisen. Inzwischen hat man unter Heranziehung einzelner Merkmale, und zwar nach den Verhältnissen bei der Sporenbildung, innerhalb der Gruppe drei „Ordnungen" aufgestellt, die allerdings nicht Ordnungen in einem natürlichen System entsprechen, und zwar I. Sphaeropsidales, II. Melanconiales, III. Hyphomyzeten (Engler und Prantl „Natürliche Pflanzenfamilien"). Die letztgenannten, für uns allein in Betracht kommenden Fungi imperfecti (nicht zu verwechseln mit dem viel weiteren Begriff der „Hyphenpilze", wie Plaut seine Zusammenfassung im Handbuch von Kolle und Wassermann betitelt) besitzen Sporen, die an einzeln stehenden Conidinträgern gebildet werden. Aber selbst innerhalb dieser Ordnung ist die Stellung unserer Hauptpilze keineswegs gesichert; nach der Bearbeitung in Engler-Prantl wären sie am besten zu den Oosporeen zu stellen, doch ist natürlich jede derartige Einreihung mehr oder weniger willkürlich.

Jedenfalls sind unsere Pilze gekennzeichnet durch verzweigte und septierte Hyphenfäden; die Sporen (Conidien) entstehen entweder als „Oidien" durch den Zerfall der Hyphenfäden oder werden an besondern, sich aus dem Myzel erhebenden, aufrechten und voneinander getrennten Conidienträgern erzeugt.

Ich habe in den Kreis meiner Besprechung aus dem Gebiet der Dermatomykosen nur die Erreger der Trichophytie (des oberflächlichen Herpes tonsurans und der tiefen Sycosis) einbezogen, da Favus und Mikrosporie (die nur den behaarten kindlichen Kopf befällt) bei uns, wie auch sonst in den deutschen Ländern Mitteleuropas, zu den großen Seltenheiten gehören und immer auf Einschleppung von außen zurückzuführen sind, während die Trichophytiepilze in den letzten Jahren bei uns eine sehr große Verbreitung erlangt haben.

Allgemeine Morphologie.

Wenn wir Kulturen unserer Pilze auf geeigneten Nährböden anlegen, so bildet sich ein dichtes Myzel, das sich aus den Pilzfäden, den Hyphen, zusammensetzt, die vom Ausgangspunkt der Kultur zunächst möglichst

gerade und ohne Verzweigungen radiär nach allen Richtungen auseinanderlaufen. Dieser anfangs geradlinige Verlauf und die Zartheit der Konturen sprechen vor dem Auftreten entscheidender Merkmale für die Gruppe der pathogenen Hautpilze, da die gewöhnlichen Verunreinigungen der Schimmelpilze viel kräftigere, stark konturierte Hyphenfäden besitzen, die sehr rasch Verzweigungen entsenden, welche sich ebenso wie die Stammfäden vielfach biegen und winden können. Die Hyphen weisen anfangs ein feingranuliertes Plasma auf und zeigen bei Färbung mit Plasmafarbstoffen, besonders dem von mir mit Vorteil angewendeten Bismarckbraun, schon frühzeitig durch zarte Querwände eine in bezug auf die Längenverhältnisse ungleiche Septierung des Fadens. Die Hauptmasse dieses Myzels entwickelt sich zunächst je nach der Zugehörigkeit zu einer der beiden Pilzformen, die ich später besprechen werde, einmal nur als Flächenmyzel auf der Oberfläche des Nährbodens ausgebreitet, bei der anderen Gruppe dagegen auch als Luftmyzel, d. h. neben der Ausbreitung auf der Oberfläche noch als ein meist schneeweißer, über die Nährbodenfläche emporragender flaumiger Pelz. Allmählich geben nämlich die zuerst gebildeten Hyphen zahlreiche Seitenzweige ab, die einen geradlinigen oder mehr weniger gewundenen Verlauf aufweisen, je nach der Pilzart, aber auch nach dem Nährboden, auf dem gerade die Züchtung erfolgt.

Nach einiger Zeit — ich spreche immer von Kulturen auf künstlichen Nährböden — kommt es zur Bildung der Fruktifikationsorgane, der Sporen und der „Spindeln". Der Zeitpunkt der Anlage dieser Bildungen hängt in erster Linie von dem Nährsubstrat selbst ab, dann aber auch von äußeren Umständen, wie Feuchtigkeit usw., zeigt aber keine für uns erkennbare Konstanz. Jedoch ist festzustellen, daß die eine Gruppe der Trichophytiepilze auf allen Nährböden unter allen Umständen sehr bald Sporen bildet, die andere dagegen viel später und auf manchen Nährböden überhaupt nicht.

1. Die Sporen werden, wie bereits erwähnt, als sog. Ektosporen durch Abschnürung am Ende von kurzen, ad hoc gebildeten seitlichen Sporenträgern, aber auch am Ende des Hauptstammes und der Seitenzweige gebildet. Bei diesem Vorgange zieht sich das Plasma der Hyphe (Fig. 1) allmählich an das Ende der genannten Fortsätze zusammen, worauf durch eine zarte Querlamelle die Spore vom betreffenden Zweig abgeschnürt wird. Alle Sporen sind einkammerig, entweder kreisrund oder mehr in eine Spitze ausgezogen, wie Tränentropfen, je nach der Artzugehörigkeit, besitzen eine ziemlich dicke Membran und einen plasmatischen Inhalt, innerhalb welchen bei geeigneter Färbung ein kleines, sich dunkel färbendes Korn wahrzunehmen ist. In dem Maße, als das Plasma in die Bildung der Sporen aufgeht, verödet der Inhalt der Hyphen, die dann nur mehr aus leeren Zellen bestehen, um allmählich ganz zu verschwinden, so daß nur mehr die reihenförmige Anordnung der Sporen die Lage des einstigen Hyphenfadens vermuten läßt. In der Regel wird am Ende des Sporenträgers oder der Hyphe nur eine Spore abgeschnürt. Da, wie erwähnt, bei unseren Pilzen alle Sporen gestielt sind, so bilden sie mit dem zugehörigen Hyphenfaden, wie der technische Ausdruck lautet, eine „Traube", während man Hyphenfäden mit ungestielt aufsitzenden

Sporen als „Ähre“ bezeichnet. Hie und da findet man in Kulturen Hyphen samt zahlreichen gutentwickelten Sporenträgern, bei denen jedoch die Sporenbildung ganz oder teilweise unterblieben ist; da in diesen Fällen

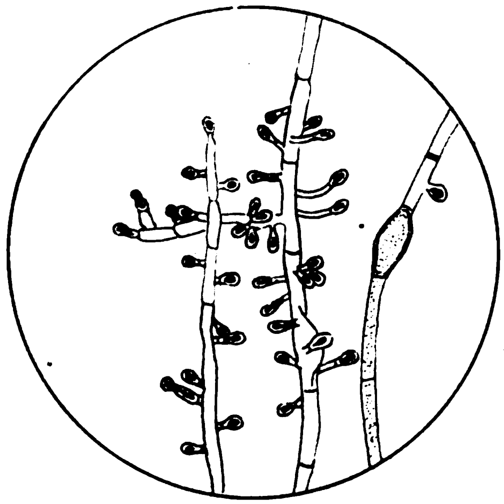


Fig. 1. Epidermismikrokultur eines Stammes der A-Gruppe (Fixierung mit Carnoy, Färbung mit Bismarckbraun).

die sterilen Sporenträger mehrzellig sind und sich verlängern, macht das Ganze den Eindruck eines entlaubten Baumes.

2. Während die besprochenen Sporen einzellig sind, gibt es bei den Hyphomyzeten eine andere weit verbreitete Conidienform, die durch Unterteilung in Kammern mehrzellig ist, die sog. „Spindeln“ (fuseaux der französischen Autoren). Ihre Bildung erfolgt in der Weise, daß entweder

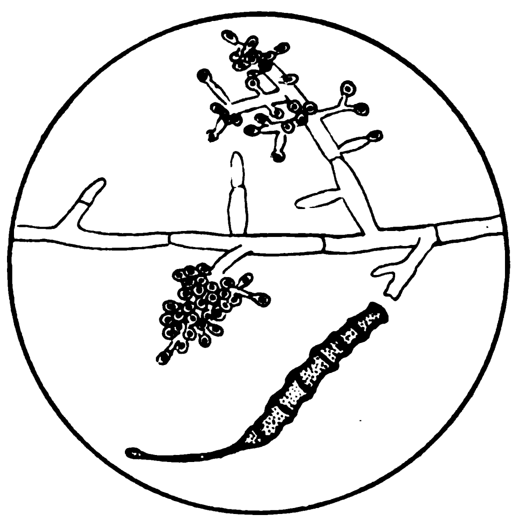


Fig. 2. Epidermismikrokultur eines Stammes der B-Gruppe (Fixierung mit Carnoy, Färbung mit Bismarckbraun).

der Hyphenfaden selbst oder ein Seitenzweig auf einer längeren Strecke anschwillt; am Hauptfaden kann diese Anschwellung an seinem Ende oder auch in seinem Verlauf erfolgen, dementsprechend werden die „Spindeln" abgerundet enden (Fig. 3 links) oder den peripheren Teil der Hyphe als Fortsatz, eventuell noch mit Sporen besetzt, tragen (Fig. 2 und 3). Durch sekundäre Querwandbildung von der verdickten Seitenwand her teilt sich diese spindelförmige Auftreibung in mehrere Kammern, deren Zahl nicht konstant ist (4 bis 12). Wegen der nicht ganz planen Querwände und wegen ihrer Form ähneln diese Kammern in ihrem Aussehen den in der Wirbelsäule aufgereihten Wirbeln. Diese „Spindeln" fallen

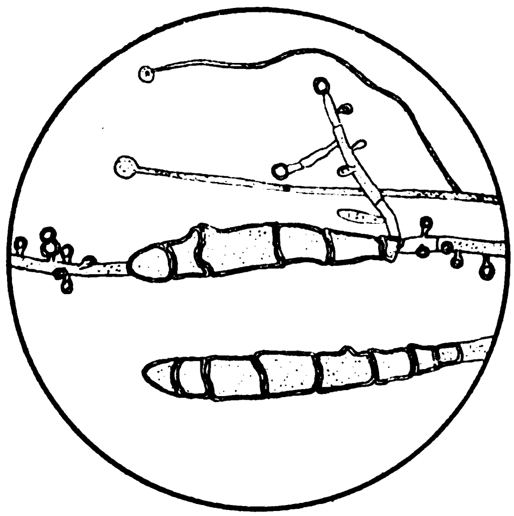


Fig. 3. Objektträgerkultur (Traubenzuckeragar) eines Pilzes der B-Gruppe; auskeimende Spindeln, Protoplasmaendknöpfe (ungefärbt in Glyzeringelatine).

bald von ihren Trägern ab und können auch in die einzelnen Kammern zerfallen, von denen jede imstande ist, Keimschläuche zu treiben (Fig. 3 rechts). Sie haben nach meinen Befunden einen großen diagnostischen Wert, da sie nur bei einer scharf umschriebenen Gruppe unserer Pilze in den Kulturen auftauchen. Da sich ihre Aufgabe mit derjenigen der einfachen Sporen zu decken scheint, ist es unklar, warum sie neben den Sporen und in deren nächster Nähe gebildet werden; vielleicht dienen sie zur unmittelbaren Propagation, während die Sporen mehr Dauerzustände darstellen. Die französischen Autoren fassen sie als eine besondere Form der gleich zu besprechenden „Chlamydosporen" auf; da wir aber über den Zweck dieser Gebilde noch weniger wissen, ist mit dieser Behauptung nicht viel gewonnen. Jedenfalls ist es merkwürdig, daß sie bei einer ganzen Gruppe der Trichophytonpilze in den Kulturen gänzlich fehlen, dagegen bei dem Erreger einer ganz anderen Dermatomykose, dem Epidermophyton inquinale, die einzige Fruktifikationsform darstellen.

3. Eine dritte, wahrscheinlich auch als Fruktifikationsform aufzufassende Bildung, die aber bei unseren Pilzen sehr in den Hintergrund

tritt, sind die „Chlamydosporen“, die in der Weise entstehen, daß im Verlaufe eines Hyphenfadens einzelne Zellen kugelförmig anschwellen (Fig. 1 rechts). Diese „Chlamydosporen“ lassen keinerlei Regelmäßigkeit des Auftretens feststellen, auch ist ihre Bedeutung, wenigstens für unsere Pilze, ungeklärt; da sie meist nur auf bestimmten Nährböden auftreten, scheinen sie bei den Trichophytonpilzen mit den Ernährungsverhältnissen in irgendeinem Zusammenhang zu stehen.

4. Bei der einen Gruppe unserer Pilze finden sich ferner in alten Kulturen starke Seitenzweige, die anfangs hakenförmig gekrümmt sind, sich aber allmählich engspiralig aufwinden, sog. „Wickel“; in Ausstrichpräparaten solcher Kulturen findet man diese Spiralen in der Regel auseinandergezogen, so daß sie täuschend den Spiralgefäßen der Phanerogamen

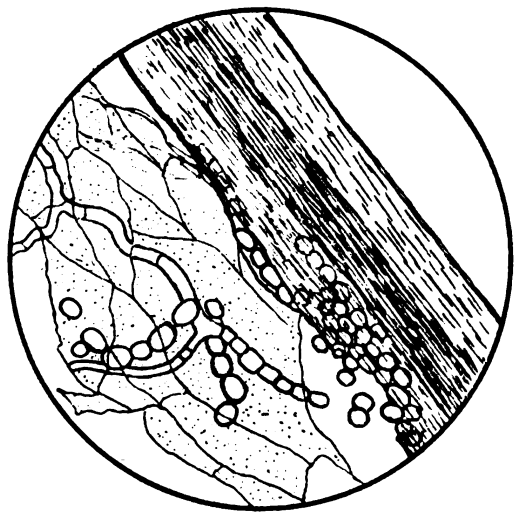


Fig. 4. Nativpräparat eines Pilzes der A-Gruppe im Haar und anstoßender Epidermis (Antiformin-Glyzerin).

gleichen. An ihre Bildung knüpfen sich theoretische Vorstellungen, welche darin eine Brücke zu der bisher fehlenden geschlechtlichen Fortpflanzung dieser Pilze sehen wollen; es handelt sich dabei sicher um rudimentäre Gebilde ohne weitere als höchstens klassifikatorische Bedeutung.

5. Endlich findet man häufig auf unseren Nährböden in der Periode des stärksten Wachstums die radiär auslaufenden Hyphen nicht einfach spitz an der Peripherie enden, sondern ohne Scheidewand in eine kugelrunde, plasmareiche Verdickung übergehen (Fig. 3 links). Ich finde diese Bildung nirgends erwähnt; sie steht sicher mit dem raschen Spitzenwachstum in Beziehung.

Aus den bisher geschilderten Einzelheiten setzen sich nun die wechselvollen Bilder zusammen, die wir bei unseren Hautpilzen in den verschiedenen Entwicklungsstadien auf den künstlichen Nährböden beobachten können. Ganz anders aber treten uns diese Dermatomyzeten auf ihrem natürlichen Nährboden, der erkrankten Haut und den Haaren, entgegen.

6. Man findet auf und in den Schuppen (bzw. Haaren) vom Rande des Krankheitsherdes einzelne oder zu Paketen vereinigte, zart konturierte Hyphenfäden mit protoplasmatischem Inhalt und meist spärlicher Verzweigung, die sich zwischen den Epidermiszellen durchwinden und stellenweise auf und in den Haaren sitzen. Ein Teil dieser Hyphenfäden zeigt nur auf weite Distanzen Querwände entwickelt, während andere Strecken (Fig. 4) durch zahlreiche Unterteilungen in mehr oder weniger gleiche Zellabschnitte zerfallen. Noch andere Fäden dagegen zeigen, wie diese kurzen Kettenglieder allmählich den Zusammenhang untereinander verlieren, sich abrunden und dann als ovoide oder kreisrunde Körper, somit auf anderem Wege entstandene „Sporen", durch ihre Aufeinanderfolge die Entstehung aus den zerfallenen Hyphenfäden erkennen lassen. Dieser simultane Zerfall in sporenähnliche Gebilde ist als „Oidienzerfall" bei den Fungi imperfecti weit verbreitet, findet sich aber bei unseren Pilzen nur auf ihrem natürlichen Substrat, auf künstlichen Nährböden dagegen, wo die Exosporenbildung vorherrscht, nie oder kaum angedeutet unter besonderen Bedingungen. Sabouraud hat merkwürdigerweise diesen Oidienzerfall als bloße Einschnürungen des Myzelfadens aufgefaßt und die Bildung von „Sporen" auf diesem Wege geleugnet. An der Tatsache dieses Propagationsmodus kann schon in Analogie zu anderen Pilzen nicht gezweifelt werden; über die Berechtigung des Ausdruckes „Sporen" läßt sich vielleicht streiten.

Untersuchungstechnik.

Die zunächst interessierende Frage, ob es sich im vorliegenden Fall um eine Dermatomykose handelt, läßt sich leicht und bei einiger Übung durch einfache Untersuchung der Schuppen und Haare ohne Färbung entscheiden. Alle zu diesem Zwecke angegebenen Färbungsmethoden sind kompliziert, an dem innerhalb der Haare befindlichen Myzel überhaupt erfolglos und zeigen absolut nicht mehr, eher weniger als ein halbwegs gutes Nativpräparat. Ich habe fast alle vorgeschlagenen Färbungen versucht und war von keiner befriedigt; es ist das natürlich, da es sich um fettreiches Material handelt, bei dem z. B. mit der Gramfärbung eine genügende Entwässerung nur mit dem Verlust fast der ganzen Färbung zu erzielen ist. Außerdem hat man es oft mit so kleinen Partikeln zu tun, daß eine komplizierte Behandlung schon aus diesem Grunde unmöglich ist. Allerdings gibt es Fälle — sie sind nach meiner Erfahrung, wenn man nur genügend Material durchmustert, recht selten — bei denen die direkte Untersuchung und ebenso die zu diesem Zwecke gerühmten Färbungen keine Hautpilze auffinden lassen, während erst die Kultur ihre Anwesenheit kundgibt.

Zur Herstellung der genannten Nativpräparate bringt man am besten Schuppen und Haare auf den Objektträger in 25proz. Antiforminlösung, bedeckt mit Deckglas, läßt etwa 10 Minuten einwirken, saugt dann mit Filtrierpapier zur Entfernung des Antiformins Wasser durch, das man darauf auf dem gleichen Weg mit Glyzerin ersetzt. Auf diese Weise geht auch sehr zerkleinertes Material nicht verloren. Zur dauernden Konservierung umschließt man das Deckglas mit etwas venezianischem Terpentin. In derartig hergestellten Präparaten treten Sporen und Hyphenfäden auf den noch erhaltenen verhornten Epidermisgebilden deutlich hervor. Eine Klassifizierung der Pilze ist jedoch auf diesem Wege nicht möglich, dazu ist die Kultur unerläßlich.

Bei der Züchtung kommt es nun einerseits auf einen besonders zusagenden Nährboden, der gleichzeitig für die Entwicklung der begleitenden Hautbakterien nicht günstig ist, und ferner auf die Methodik der Aussaat an, um die unvermeidlichen Verunreinigungen möglichst auszuschalten. Namentlich letztere Frage

hat viele Schwierigkeiten gemacht und wurde in verschiedener Weise zu lösen versucht. Ich übergehe die komplizierten Methoden von Kral[1]) (Zerreiben des Materials mit Kieselguhr), Krösing[2]) (Zerteilen der bereits gewachsenen jungen Kultur durch Schütteln mit sterilem Wasser) usw., da man mit dem viel einfacheren Vorgehen nach Sabouraud oder Plaut das Auslaugen findet. In ersterer Richtung sind die bis zu einem gewissen Grad elektiven Nährböden von Sabouraud, der sich um die Erforschung der Hautpilze große Verdienste erworben hat, allgemein in Verwendung, und zwar sowohl zur ersten Kultivierung als auch zur Fortzüchtung. Er empfiehlt zu diesem Zweck einen einfachen 1,5proz. Agarnährboden ohne Fleischwasser, dem er als Stickstoffquelle 1proz. Pepton und als Kohlehydratquelle 4proz. Maltose (resp. Traubenzucker oder Milchzucker) zusetzt; Alkalisieren resp. Neutralisieren unterbleibt. Namentlich der so hergestellte Maltoseagar ist für fast alle Dermatomyzeten ein ausgezeichneter Nährboden.

Nun hat aber Sabouraud gleichzeitig diesen Nährboden, sein ,,Milieu d'épreuve", zur Diagnosenstellung verwendet, und zwar auf Grund des makroskopischen Aussehens, das die Kulturen darauf bieten. Um aber sicher vergleichbare Kulturen zu erhalten, müssen diese Nährböden immer von absolut gleicher Herstellungsart und Zusammensetzung sein, was nach ihm nur dann möglich wäre, wenn die Bestandteile immer von derselben Firma (Cogit in Paris) bezogen werden. Abgesehen davon, daß der Bezug dieser Chemikalien für uns Deutsche schon seit langer Zeit unmöglich ist, wäre es für eine bakteriologische Methode sehr traurig bestellt, wenn sie auf eine einzige Firma in der Welt als Bezugsquelle angewiesen wäre, selbst wenn diese Firma die Gewähr böte, immer dasselbe Material zu liefern. Tatsächlich ist auch diese nach Sabouraud unbedingt nötige Voraussetzung überflüssig, worüber ich später sprechen werde, es genügen die von deutschen Firmen, z. B. Merck, bezogenen Zuckerarten vollkommen. Man erhält mit dem 4proz. Maltoseagar zwar die besten Resultate zur Erzielung von Kulturen aus den Epidermisgebilden überhaupt, während nur der 4proz. Traubenzuckeragar bei der Weiterzucht sehr charakteristische Wachstumsmerkmale zur Differenzierung der Pilze untereinander bot, wie übrigens auch schon Plaut betonte. Weiterhin wurden die im bakteriologischen Laboratorium üblichen Nährböden, wie 1proz. Traubenzuckeragar, mit Fleischwasser zubereitet, Nährgelatine usw. verwendet.

Die Aussaat erfolgt am besten nach der Vorschrift Sabourauds, der auf die Oberfläche des schief erstarrten Maltoseagars mit der Öse kleinste Schuppenpartikelchen einfach in Reihen auflegt, wobei man mit der ausgeglühten Öse vorher den Nährboden berührt, um ein Haften der Schüppchen an der Öse zu ermöglichen. Haare werden zu dem Zwecke auf einem in der Flamme sterilisierten Objektträger in kleinste Stückchen zerschnitten und diese in gleicher Weise auf den Schrägagar gebracht, immer 5—6 Partikeln auf ein Röhrchen. Da die Menge der Pilzelemente natürlich sehr wechselnd ist, anderseits auf Schuppen und Haaren reichlich bakterielle Verunreinigungen vorhanden sind, kommt es darauf an, möglichst viele Röhrchen (mindestens 5—6) in dieser Weise zu beimpfen. Die Röhrchen kommen dann in den Gelatineschrank oder bleiben in der warmen Jahreszeit bei Zimmertemperatur und zeigen in positiven Fällen nach 3 bis 5 Tagen das Auswachsen zarter Hyphenfäden.

Eine zweite, sehr zweckmäßige Aussaatmethode ist die von Plaut[3]) angegebene. Man bringt auf den einen von zwei durch Erhitzen sterilisierten Objektträger etwas Traubenzuckerbouillon und einige der zu untersuchenden Schuppen, die man durch Aufquetschen des anderen Objektträgers zu einem Brei zerreibt. Der Brei wird dann weiterhin mit Traubenzuckerbouillon verdünnt, und mit der Öse von der so entstandenen Aufschwemmung kleinste Mengen nebeneinander auf mehrere mit Maltoseagar beschickte Petrischalen gebracht.

Zweckmäßigerweise signiert man sich mit dem Fettstift auf der Rückseite der Petrischale die Stellen, wo Material hingebracht wurde. Wenn sich kleine Ko-

1) Archiv für Dermatologie 1891.
2) Archiv für Dermatologie 1896.
3) Mraček, Handbuch der Hautkrankheiten.

lonien, frei von Verunreinigungen, entwickelt haben, werden sie mit dem Nährboden ausgestochen und weiter übertragen. Ich habe diese beiden Methoden zur Aussaat immer nebeneinander verwendet, da sie sich sehr gut ergänzen, und häufig mit der einen ein Resultat erzielt wird, wenn die andere versagt. Recht häufig gehen auch später Verunreinigungen neben den Pilzkolonien an, welch letztere dann rechtzeitig durch Ausstechen und Übertragen auf frischen Nährboden zu sichern sind. Andere Methoden, die mittels chemischer Einwirkung die Verunreinigungen zu beseitigen trachten, habe ich auch versucht, aber keine Vorteile erkennen können. Mit dem geschilderten Züchtungsvorgang waren durchwegs gute Resultate zu verzeichnen, allerdings hängt der Erfolg der Züchtung stark von der mehr oder minder reichlichen Anwesenheit der Erreger im Ausgangsmaterial ab. Sind dann endlich auf dem Maltoseagar kleine Einzelkulturen ordentlich entwickelt, so werden sie mit der Öse abgenommen, d. h. mit dem darunterliegenden Nährboden herausgestochen und auf andere Nährböden übertragen. Das einfache Abkratzen der Kultur mit der Öse, wie man es beim Übertragen von Bakterienkulturen gewöhnt ist, führt hier nicht zum Ziele, da die Myzelfäden untereinander festhaften und die Öse beim Darübergleiten zu wenig Material mitnimmt, wenn nicht schon genügend Sporen gebildet sind.

Eine weitere, für die Diagnosenstellung wichtige Kulturform stellt die sog. „in situ-Methode“ nach Plaut dar. Sie besteht darin, daß man das Untersuchungsmaterial auf einem sterilen Objektträger mit einem sterilen, auf 4 Wachsfüßchen montierten Deckglas bedeckt und das Ganze in einer feuchten Kammer im Brutschrank hält. Dabei keimen die in den Schuppen und Haaren befindlichen Pilze aus und bilden charakteristische Wachstumsformen, die für die Gruppenzugehörigkeit von Bedeutung sind. Ein Nachteil liegt dabei darin, daß das Ausgangsmaterial häufig mit Schimmelpilzen verunreinigt ist, die durch ihr rasches Wachstum die Hautpilze überwuchern. Ich habe daher darauf verzichtet, das Ausgangsmaterial zu dieser Kulturmethode zu verwenden, sondern bin zu diesem Zwecke von erzielten Reinkulturen ausgegangen, denen ich jedoch ein möglichst natürliches Nährmaterial zusetzte, nämlich sterilisierte Hautschuppen. Ich gehe dabei in folgender sehr einfacher Art vor. Zwei Objektträger werden abgeflammt und zur Vermeidung von Luftverunreinigungen in eine sterile Petrischale gebracht; darauf legt man, den 4 Ecken des Deckglases entsprechend, 4 kleine Stückchen von Paraffin oder Wachs, in deren Zentrum einige im Dampf sterilisierte Hautschuppen (z. B. von einer negativen Pilzuntersuchung herrührend) und darauf Sporenmaterial der zu untersuchenden Kultur. Dann wird ein steriles Deckglas darüber gedeckt und nach Erwärmen der Paraffinfüßchen über kleiner Flamme möglichst fest niedergedrückt. Zwei derart hergestellte Objektträgerkulturen — ich will sie fernerhin als „Epidermismikrokultur“ bezeichnen — kommen, im Deckel einer Petrischale liegend, in eine Kollesche Schale, wie sie für Stuhluntersuchungen im Laboratorium verwendet werden. Einige Tropfen Wasser am Boden der Kolle-Schale erhalten die Kultur auf dem nötigen Feuchtigkeitsgrade. Die Pilze finden so genügende Nahrung und Wasser, um sich kräftig zu entwickeln und reichlich ihre charakteristischen Wuchsformen zu bilden. Da man das Wachstum unter dem Mikroskop verfolgen kann, erhält man sehr instruktive Bilder, die man außerdem auf jedem Stadium in Dauerpräparate umwandeln kann. Zu letzterem Zwecke habe ich nach vielerlei Versuchen eine sehr einfache Behandlungsart ausfindig gemacht. Man hebt mit einer Nadel das Deckglas ab, wobei die Hautschuppen und das gebildete Myzel entweder am Deckglas oder am Objektträger haften bleiben; sie werden durch einige Tröpfchen Carnoyscher Flüssigkeit (10 ccm Eisessig, 60 ccm abs. Alkohol, 30 ccm Chloroform) rasch und sicher fixiert, da diese Lösung das Myzel, das für wässerige Flüssigkeiten schlecht benetzbar ist, mit einem Schlage durchdringt und außerdem an der zugehörigen Glasfläche kleben macht. Nach kurzem Aufenthalt in 70proz. Alkohol und in Wasser werden diese Präparate durch Einwirken einer wässerigen, vor Gebrauch filtrierten Bismarckbraunlösung durch etwa ¼ Stunde gefärbt. Darauf wird mit Wasser abgespült, an der Luft getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen. Diesen Vorgang kann ich wärmstens empfehlen, er gibt vorzügliche Präparate, die ohne jede Überfärbung alle wünschenswerten Details erkennen lassen; denn auch hier versagen alle komplizierten Färbungs-

methoden, aber auch die verschiedenen einfachen von Sabourand und anderen angegebenen. Nach solchen Präparaten sind auch die beigegebenen Textfiguren (1 u. 2) gezeichnet.

Ausgehend von der Idee, daß dem makroskopischen Aussehen der Kultur auch mikroskopisch bestimmte Wachstumsverhältnisse entsprechen müssen, habe ich mir eine entsprechende Beobachtungsmethode zurechtgelegt. Ich bringe auf einen sterilen Objektträger 1—2 Tropfen verflüssigten Agar (mit Maltose oder Traubenzucker) und verimpfe nach dem Erstarren eine Spur von der zu untersuchenden Kultur. Die so hergestellte Mikrokultur halte ich unter sterilen Verhältnissen und feucht im Gelatineschranken, wozu mir ebenfalls die Kolle-Schalen gute Dienste leisteten.. War das gewünschte Wachsstumstadium erreicht, so fixierte ich die Mikrokultur auf dem Objektträger wieder mit Carnoyscher Flüssigkeit und schloß dann einfach ohne Färbung in gewöhnlicher Glyzeringelatine ein. Wenn auch auf diesem Wege wider Erwarten viel weniger an Tatsachen zu erheben war, so ergaben mir doch diese Mikrokulturen auf festen Nährböden viel bessere Resultate als die von Sabouraud angegebenen Kulturen in einem Tröpfchen Maltosebouillon, die man übrigens sehr leicht herstellen kann, wenn man über diesen Tropfen, der sich auf einem sterilen breiten Objektträger oder dazu geschnittener Glasplatte befindet, ein sog. Blockschälchen stülpt und den offenen Verbindungsrand mit verflüssigtem Paraffin umzieht. Die Pilze zeigen in diesen Kulturen zwar ein üppiges Myzelwachstum, aber unregelmäßige und sehr verzögerte Fruktifikation, was ich, wie bereits erwähnt, auf die etwas unnatürlichen Verhältnisse in der geringen Nährbodenmenge zurückführen möchte.

Mit diesen im Vorstehenden geschilderten, auf ihre Einfachheit und Zweckmäßigkeit reichlich erprobten Methoden gelingt es leicht, den Entwicklungsgang unserer Hautpilze unter den verschiedensten Verhältnissen zu studieren.

Verhalten der Pilze in den Kulturen.

Schon der Entdecker des Erregers des Herpes tonsurans im Jahre 1842, Gruby, hat mehrere Arten von Hautpilzen unterschieden. Seit damals ist diese Frage nach der Mehrheit oder Einheit vorzüglich der Trichophytiepilze nicht zur Ruhe gekommen. Ich verweise bezüglich der langwierigen Geschichte auf die Übersichten Plauts; die Ansichten änderten sich von Jahr zu Jahr. Darüber, daß man für die drei auch klinisch differenten Erkrankungen — Favus, Mikrosporie, Herpes tonsurans — drei verschiedene Pilzarten bzw. Genera anzunehmen hat, ist man sich bis heute klar geworden, aber inwiefern man innerhalb dieser drei Gruppen verschiedene Varietäten bzw. Unterarten oder gar Arten aufzustellen berechtigt sei, darüber gehen die Ansichten auch heute auseinander, doch schienen alle bisherigen Ergebnisse nur zur Aufstellung von Varietäten zu berechtigen. Die Frage ist deshalb so schwierig zu beantworten, da die Hautpilze — vor allem die uns hier interessierenden Trichophytiepilze — einen Polymorphismus in den Kulturen aufweisen, wie er auf dem ganzen Gebiet der sonst so variationsfreudigen Mikroorganismen nicht mehr zu verzeichnen ist. Es ist natürlich, daß man schon bei Berücksichtigung des makroskopischen Aussehens der Kulturen leicht eine Reihe von unterschiedlichen Gruppen aufstellen kann. Auf diesen äußerlichen Merkmalen beruht ja der Versuch Sabourauds, ein System der Trichophytiepilze zu begründen; er hat sich dabei immerhin nur auf 17(!) verschiedene Formen beschränkt, die seitens der Italiener noch um eine Anzahl schön klingender Namen vermehrt wurden. Aller-

dings hat Sabouraud diese 17 Formen zunächst[1]) nach Eigenschaften, die die Pilze an ihren natürlichen Fundstellen zeigen, in drei Gruppen unterteilt (Ektothrix, Neo-Endothrix, Endothrix); er hat ferner die Pilze in seinen Tropfenkulturen morphologisch studiert, aber bei der Diagnosenstellung legt er den Hauptwert auf die Erscheinungsform auf dem von ihm angegebenen 4proz. Maltoseagar, dem „Milieu d'épreuve", für das er, wie bereits erwähnt, immer genau die gleiche Zusammensetzung verlangt. Diese Ansicht Sabourauds, daß auch geringste Schwankungen des Nährsubstrates für die Klassifizierung der Kulturen von Bedeutung sein können, ist richtig, doch variieren die Pilze manchmal auf genau demselben Nährboden unter uns nicht immer erkennbaren Einflüssen. Übrigens wird auch das „Milieu d' épreuve" nicht immer ganz gleich beschaffen sein, da selbst schon Feuchtigkeitsunterschiede genügen können, um Kulturen abändern zu lassen.

Dasselbe gilt auch für Krösing[2]) unter den deutschen Autoren, der ebenfalls eine Klassifizierung durch den makroskopischen Vergleich der unter möglichst gleichen Bedingungen gewachsenen Kulturen ermöglichen wollte; er verwendete dazu die Kartoffel als Einheitsnährboden; daß dies ein noch weniger gleichmäßiger Nährboden ist, als selbst der echte Pariser Maltoseagar, braucht nicht erst ausgeführt zu werden. Wälsch[3]) bemerkt hinsichtlich der auf diese Weise zustande gekommenen Klassifikationen der Trichophytiepilze mit Recht, daß es sich nicht um Arten handeln könne, denn dazu sind sie zu inkonstant; sollten aber diese aufgestellten Abteilungen Varietäten sein, dann sind es viel zu wenige!

Es war daher natürlich, daß man sich nach verläßlicheren Unterscheidungsmerkmalen umgesehen hat und dazu das mikroskopische Verhalten der Pilze einerseits auf den gewöhnlichen festen Nährböden, anderseits in flüssigen, nur zu diesem Zwecke angesetzten Mikrokulturen verwenden wollte. Aber auch auf diesem Wege kam man nicht zum Ziele, da den erhobenen Differenzen besonders bezüglich der Sporenbildung angeblich die Konstanz mangelte, so daß man immer wieder auf die makroskopischen Kulturdifferenzen zur Unterscheidung zurückgegriffen hat.

Wenn ich aus meinen Untersuchungen Schlüsse ziehe, so kann ich:

1. selbstverständlich auch die große Variabilität der verschiedenen Stämme auf den gebräuchlichen Nährböden feststellen, jedoch mit der

---

1) Sabourauds System der von ihm aufgestellten Trichophytonformen:

Trichophyton:

1. Endothrix	2. Neo Endothrix	3. Ektothrix	
		a) Microides	b) Megaspores
Tr. crateriforme	Tr. cerebriforme	Tr. gyps. radiolatum	Tr. nosaceum
Tr. umbilicatum	Tr. plicatile	Tr. gyps. asteroides	Tr. equimum
Tr. regulare		Tr. niveum	Tr. faviforme album
Tr. acuminatum			Tr. faviforme discoides
Tr. violaceum			Tr. faviforme ochraceum
Tr. glabrum			
Tr. sulfureum			

2) l. c.

3) Arch. f. Dermat. 1896, 37. Band.

Einschränkung, daß die Unterschiede auf den hochperzentigen Zuckermedien, wie sie von Sabouraud angegeben wurden, immerhin eine derartige Konstanz aufweisen, daß man niemals über die Zugehörigkeit zur einen oder anderen Gruppe im Zweifel sein wird. Allerdings bezieht sich das auf wirklich durchgreifende Unterschiede und nicht auf leicht abändernde Merkmale, wie geringe Differenzen der Oberflächenkonfiguration, Farbstoffbildung usw. Freilich kommt man dann dazu, sich mit einer weit geringeren Anzahl von Formen zu bescheiden.

2. Ferner konnte ich konstatieren, daß die mikroskopische Untersuchung der Kulturen keine derart konstanten Unterschiede ergibt, um darauf eine Einteilung unserer Pilze zu begründen; ebensowenig sind die von Sabouraud angegebenen Mikrokulturen im hängenden Tropfen, die sich für biologische Untersuchungen sonst gut bewähren, dazu geeignet. Dagegen fand ich in den „Epidermismikrokulturen", deren Herstellung ich oben auseinandergesetzt habe, ein sicheres Mittel, im Zusammenhalt mit dem makroskopischen Aussehen der Kulturen auf den Zuckernährböden die bei uns vorkommenden Trichophytonpilze in scharf umrissene Gruppen zusammenzufassen; zu diesen morphologischen Merkmalen kommen nun außerdem ebenso konstante biologische hinzu. Wenn man sich auch der Schwierigkeiten, die eine korrekte Artdefinition bei den Mikroorganismen, besonders bei den so außerordentlich variablen Bakterien bereitet, bewußt ist, muß doch das stete Zusammentreffen morphologischer, kultureller und biologischer Eigenschaften, die noch dazu in qualitativer und nicht bloß in quantitativer Richtung ausgeprägt sind, genügen, diese im folgenden zu besprechenden Gruppen zumindest als verschiedene Arten auffassen zu können.

Ich konnte nun bei den zahlreichen hier in Graz untersuchten Fällen von Trichophytie das Vorkommen von zwei, in diesem Sinne verschiedenen Arten mit Sicherheit feststellen. Ob es noch mehr solcher scharf zu umschreibender Arten überhaupt gibt, weiß ich nicht, da ja die Trichophytiepilze nicht kosmopolitisch gleichmäßig verteilt vorkommen. Innerhalb der beiden Arten findet man allerdings genug kulturelle Verschiedenheiten, um daraus etliche Varietäten im Sinne Sabourauds aufstellen zu können, wozu mir jedoch wegen der geringen Konstanz dieser Merkmale keine genügende Begründung vorzuliegen scheint.

Es fällt mir nicht ein, zur Steigerung der ohnehin bestehenden Verwirrung, diesen beiden Arten neue Namen zu geben, denn sie sind ja vor mir vielmals gesehen und sicher mehrmals benannt worden. Um sie nach den wissenschaftlichen Nomenklaturregeln mit den ihnen gebührenden Namen zu belegen, bedarf es eines Vergleiches mit älteren Beschreibungen und eine Beurteilung der an verschiedenen Orten gezüchteten Stämme nach den gleich zu besprechenden Gesichtspunkten. Ersteres ist bei der meist alleinigen Berücksichtigung des makroskopischen Kulturbildes nur zum Teile möglich, immerhin dürfte die eine meiner Arten (B) der Gruppe „Trich. gypseum" Sabourauds entsprechen, während die andere (A) zum größten Teil sich mit seiner Neo-Endothrix-Gruppe deckt, soweit eben bei der Sabouraudschen Einteilung von Konstanz die Rede sein kann. Einer meiner A-Stämme z. B. zeigte in der ersten Kultur das Bild

eines Tr. crateriforme (Tafelfig. 8), bei weiterer Fortzüchtung dagegen wuchs er immer als Tr. cerebriforme (Tafelfig. 5). Es ist daher eine Identifizierung mit den Gruppen Sabourauds nur bedingt möglich. Um somit in keiner Weise zu präjudizieren, will ich die beiden Trichophytonarten vorläufig bloß als A-pulveriger und B-fädiger Pilz bezeichnen.

Nach diesen mir nötig erscheinenden Vorbemerkungen will ich in möglichster Kürze die Befunde schildern, die man bei systematischer Untersuchung der Trichophytiepilze konstatieren kann. Im Nativpräparat der Epidermisbestandteile nach Antiformin-Glyzerinbehandlung findet man, gleichgültig welcher Gruppe der Pilz angehört, ein recht uniformes Bild: einerseits zarte ununterbrochene Hyphenfäden mit gleichmäßig parallelen Konturen, anderseits solche, die durch starke Septierung in Ketten von mehr oder minder rechteckigen oder rundlichen Sporen zerfallen — alles das im Haar, um das Haar sowie in bzw. auf den vom Antiformin unbeeinflußt gebliebenen Hornlamellen; im Haar sieht man meist massenhaft nebeneinanderliegende Ketten von rechtwinkeligen Gliedern. Wie aus der Fig. 4 hervorgeht, sind die Sporen von sehr verschiedener Größe. Messungen — allerdings an Antiforminpräparaten ausgeführt — ergaben folgende Zahlen: 3 bis 7 μ für die Länge, 2 bis 5 μ für die Breite, dann finden sich auch kreisrunde mit einem Durchmesser bis herab zu 2 μ. Es ist daher nicht möglich, wie bereits Krösing[1]) ausführlich berichtet hat, auf Grund der Sporengröße der Pilze in der Haut allein irgend eine Unterscheidung einzuführen. Selbstverständlich widerstehen Hyphen und Sporen in der Haut und in der Kultur vermöge ihres Wandgehaltes an Pilzzellulose dem Antiformin, dessen auflösender Wirkung alles tierische Zellmaterial mit Ausnahme der verhornten Partien zum Opfer fällt; aus diesem Umstande fällt auch jede Analogisierung dieser Pilzsporen mit den Sporen der Bakterien hinweg. Außer dieser endogenen Sporenbildung, dem Oidienzerfall, bilden diese Pilze am Orte ihres natürlichen Vorkommens keine andere Fruktifikationsform aus.

Sabouraud hat seine verschiedenen Varietäten zunächst dadurch in ein System gebracht, daß er sie nach ihrem parasitischen Verhältnis zum Haare in drei Gruppen zusammenfaßte: Ektothrix, Endothrix, Neo-Endothrix. Bei Ektothrix ist nicht nur das Haar sondern auch die umgebende Epidermis von Pilzen befallen, bei Endothrix finden sich die Pilze nur im Haar vegetierend, da der anfangs zu Beginn der Erkrankung natürlich auch außerhalb der Haare liegende Pilzanteil bald zugrundegeht; den Übergang zwischen beiden vermitteln die Neo-Endothrix-Stämme, bei denen der extrapiläre Anteil zwar eine Zeitlang besteht, dann aber doch verschwindet, so daß an älter erkrankten Haaren nur mehr eine Endothrixform zum Vorschein kommt. Sichere Endothrix-Stämme fanden sich unter meinem Material nicht vor, so daß ich darüber kein Urteil abgeben kann, dagegen gehörten viele meiner Kulturen den Neo-Endothrix-Formen der Sabouraudschen Einteilung an. Trotz eifriger Durchmusterung vieler Präparate ließen sich nun niemals die für die Differenzierung von Ektothrix und Neo-Endothrix angegebenen

1) l. c.

Unterschiede mit einiger Sicherheit konstatieren, immer war Haar und seine nächste Epidermisumgebung gleichzeitig und oft in stärkstem Ausmaß befallen; so z. B. bei dem Fall, von dem die Fig. 4 stammt, und bei dem es bereits zu weitgehenden Zerstörungen der Haare gekommen war. Eine Unterscheidung von Ektothrix und Neo-Endothrix nach dem Verhältnis der Pilze zum Haare ist somit nach meinen Erfahrungen unmöglich. Es kommt somit von dem Sabouraudschen Einteilungsprinzip nur das Verhalten auf künstlichen Nährböden in Betracht.

Wenn man nun das Material auf einer der früher geschilderten Arten auf 4% Maltoseagar zur Aussaat bringt, so bemerkt man, falls die Stelle von Verunreinigungen frei geblieben ist, nach 4 bis 5 Tagen zarte feine Hyphenfäden sich aus dem Substrat erheben, die sich rasch verdichten und nach etwa 14 Tagen ein hellerstückgroßes Myzel auf dem Nährboden bilden. Schon auf diesem Stadium, auf dem von den bei Sabouraud zur Einteilung verwendeten Kulturcharakteristika noch nichts zu sehen ist, sind dennoch die jungen Kulturen schon so weit unterscheidbar, daß man ohne weiters die Zugehörigkeit zu einem der beiden aufgestellten Typen feststellen kann. Während sich nämlich bei der A-Gruppe das Myzel flach auf dem Nährboden ausbreitet und — was das wichtigste ist — von Anfang an deutlich bestaubt erscheint, erzeugen die Angehörigen der B-Gruppe ein dichtes, aufstehendes, einem feinen Pelz nicht unähnliches, schneeweißes Luftmyzel, das keine Spur von Bestäubung aufweist, sondern nur aus glatten Hyphenfäden besteht. Dieser Unterschied wird mit dem Fortschreiten des Wachstums immer deutlicher. Es erreichen die zur B-Gruppe gehörigen Pilze schon eine beträchtliche Größe in der Kultur, bis zuerst im Zentrum (Tafelfig. 1) Sporenbildung makroskopisch sichtbar wird, und zwar in Form pulverig weißer Knöpfchen, die sich anfangs auch nur wenig vom Zentrum entfernen und das periphere Hyphengeflecht ganz freilassen; dagegen setzt sich bei den A-Pilzen die ganze Kultur aus gleichmäßig dicht bestaubten Hyphenfäden zusammen, die nur im Zentrum einer undeutlichen, aber gleichfalls bestaubten Knopfbildung Raum geben (Tafelfig. 2). Es braucht nicht erst betont zu werden, daß die Bestäubung der Hyphenfäden bei der A-Gruppe der schon mit Beginn der Kultur reichlich einsetzenden Sporenbildung zuzuschreiben ist. Hinzuzufügen wäre noch, ohne daß ich darauf besonderen Wert lege, daß alle B-Kulturen schneeweiß bleiben, während die A-Kulturen von Anfang an einen drappen Farbton aufweisen.

Damit sind nach meiner Erfahrung die Erscheinungsformen auf dem 4proz. Maltoseagar erschöpft. Eine besondere Eignung gerade dieses Nährbodens, den Sabouraud vorzüglich zur Diagnosenstellung heranzieht, vor anderen Zuckernährböden konnte ich nicht feststellen, allerdings schrieb er die von Cogit in Paris bezogene Rohmaltose vor, während die von mir verwendete reine Maltose keine charakteristischen Kulturen gibt. Die geschilderte Eigenschaft der A-Pilze, ein flaches, durchwegs mit Sporen bestaubtes Myzel zu bilden, während die Kulturen der B-Pilze durch ein schneeweißes Luftmyzel mit nur stellenweiser Sporenentwicklung charakterisiert sind, kehrt übrigens auf allen Nährböden im Prinzip wieder, da diese Merkmale eben auf biologischen Eigenheiten

der beiden Arten beruhen, über die ich bei der Besprechung der mikroskopischen Befunde berichten werde.

Viel charakteristischer als auf dem Maltoseagar wachsen die beiden Formen auf dem 4proz. Traubenzuckeragar, so daß dieser Nährboden viel eher zu einer Diagnosenstellung zu verwerten wäre. Die ausgewachsene Pilzkultur zeigt auf diesem Substrat nach 1 bis 1½ Monaten folgendes Aussehen:

1. A-Pilze: Die Kolonie stellt (Tafelfig. 4) eine dicht bestaubte, leicht drapp gefärbte (bei ungehemmter Entfaltungsmöglichkeit kreisrunde) Fläche dar, die nach außen einen ziemlich schmalen, glatten Rand mit kurzen strahligstaubigen Ausläufern aufweist, während die ganze mittlere Partie durch tiefe Furchen unregelmäßig gewulstet ist, so daß ein Vergleich mit den Windungen an der Gehirnoberfläche tatsächlich sehr nahe liegt. Im Alter bekommen einzelne Kulturen auf der Höhe der Falten feine Sprünge, an welchen Stellen wegen Fehlens der Bestäubung (Tafelfig.5) der braungefärbte Grund der Kolonie hervorschaut, wodurch eine zart netzförmige, dunkle Skulpturierung gebildet wird. Da letztere Veränderung nicht bei allen A-Kulturen eintritt, wäre gleich ein Anlaß zur Aufstellung neuer Varietäten gegeben.

2. B-Pilze: Die entwickelte Kultur (Tafelfig. 3) zeigt irisartig ineinandergeschobene Kreise — in der Eprouvette allerdings sind sie in der vollen Ausbildung seitlich gehemmt. Im Zentrum findet sich meist ein kleiner Schopf von weißem Luftmyzel, dann kommt nach außen eine kreisförmige massige Sporenanhäufung, im Alter von mehr gelblichweißer Farbe, die den Eindruck von aufgestreutem grobem Gypsmehl macht; dann folgt wieder ein Ring von watteartigem Luftmyzel usf. bis an den Rand, wobei die äußersten Ringe im Alter noch eine rosenrote Färbung annehmen können. Dieses anfangs regelmäßige Bild verschiebt sich allerdings mit der Zeit, da sich die Sporenmassen allmählich über die ganze Kultur ausbreiten.

Ich habe im vorstehenden die Hauptcharakteristika der Kulturformen, die mit großer Konstanz auf Traubenzuckeragar immer wiederkehren, beschrieben und will von den übrigen Details, die mir unwesentlich erscheinen, absehen.

Von den übrigen zum Vergleich herangezogenen Nährböden sei nur kurz erwähnt, daß der 4proz. Milchzuckeragar bei der B-Gruppe noch weniger Sporenbildung entstehen läßt, als der Maltoseagar, so daß die Kultur auf lange Zeit nur aus Luftmyzel besteht, übrigens tritt auf diesem Nährboden auch bei der A-Gruppe die Sporenbildung etwas in den Hintergrund. Auf dem im Laboratorium gebräuchlichen 1proz. Traubenzuckeragar, mit Fleischwasser zubereitet, ähneln die Kulturen des A-Pilzes denen auf 4proz. Traubenzuckeragar, nur ist die Kultur (Tafelfig. 7) viel kleiner, das Ganze ist förmlich zusammengedrückt, die Windungen schmäler. Die B-Pilze zeigen dagegen auf diesem Nährboden im Gegensatz zu den bisher besprochenen eine viel intensivere und auch gleichmäßig ausgebreitete Sporenbildung, so daß wir eine dicht weiß bestaubte, runde Fläche (Tafelfig. 6) vor uns sehen, die aber in bezug auf Skulpturierung äußerst veränderlich ist.

Auf Gelatine verflüssigen alle beide Formen, nur sind die B-Pilze durch Bildung eines schwefelgelben Farbstoffes ausgezeichnet, übrigens wie alle Farbstoffbildungen ein sehr inkonstantes Merkmal. Die Befunde auf anderen Nährböden will ich nicht erwähnen, da sie kein Interesse bieten.

Wir sehen somit, daß trotz kultureller Verschiedenheiten der einzelnen Stämme untereinander die beiden Gruppen sich auf fast allen Nährböden scharf unterscheiden lassen, zunächst schon bei ganz oberflächlicher Betrachtung der Kulturen, dann aber vielmehr durch den Umstand, daß die A-Stämme auf allen Nährböden von Anfang an reichliche Sporulation aufweisen, während die B-Stämme, die anfangs durch Bildung eines reichlichen Luftmyzels ausgezeichnet sind, viel später, auf manchen Nährböden sogar erst im Alter zur Sporenbildung schreiten.

Einschneidende Unterschiede zwischen einzelnen größeren Gruppen der Trichophytiepilze waren schon Krösing[1]) im Jahre 1896 aufgefallen; doch galt auch diesem Autor, ebenso wie Sabouraud, das makroskopische Aussehen der Kultur alles, während er die mikroskopischen Verhältnisse als nicht konstant vernachlässigen zu können glaubte. Diese Unterschiede stellte er auf der als Standardnährboden verwendeten Kartoffel fest, von der er annahm, ein immer gleichbleibendes Nährsubstrat in der Hand zu haben. Auf Grund der auf der Kartoffel erhobenen Befunde kam er zu ähnlichen Resultaten, wie ich mit den verschiedenen Nährböden, nämlich, daß man die Trichophytiepilze bei Vernachlässigung zahlreicher äußerer und sicher variabler Erscheinungsformen der Kulturen, die von anderen Autoren als Einteilungsprinzip herangezogen worden sind, in ganz wenige — er unterschied drei — Gruppen unterteilen kann, und zwar durch Feststellung bloß einiger, aber grundlegender Kulturmerkmale. Leider blieben diese Ergebnisse Krösings[1]) im Schatten der Arbeiten der französischen Schule ganz unbeachtet.

Dagegen stimme ich nicht mit Krösing[1]) überein, daß die mikroskopischen Merkmale wegen Inkonstanz wertlos seien; das ist schon deswegen unrichtig, da die besprochenen Kulturmerkmale ja auf ganz bestimmten morphologischen bzw. biologischen Eigenschaften beruhen, nämlich dem Zeitpunkt des Eintretens und der Lokalisation der Sporenbildung. Aus diesen Gründen verwendete ich zur Diagnosenstellung schon als eine Art Sicherheitskoeffizient neben dem äußeren Verhalten der Kulturen noch das mikroskopische Verhalten der Pilze in den Kulturen und endlich noch zu besprechende biologische Eigenschaften.

Zu diesem Zwecke sind jedoch die von Sabouraud angegebenen Kulturen im hängenden Tropfen ganz ungeeignet, da die Pilze in diesen Mikrokulturen höchst unregelmäßig oder auch gar nicht zur Sporulation kommen. Dagegen ergaben mir die „Epidermismikrokulturen" (cf. Technischer Teil), die ich von der Reinkultur auf sterilisierten Hautpartikeln anlegte, folgende sehr konstante Befunde, die sich in ausgezeichneter Weise in der geschilderten Art der Fixierung und der Färbung mit Bismarckbraun festhalten ließen.

---

1) l. c.

Wenn wir einen Vertreter der A-Gruppe unter dem Deckglas auf Epidermis züchten, so sehen wir, daß die nach allen Richtungen auswachsenden Hyphenfäden meist von gleichmäßiger Dicke sind und sehr bald (innerhalb einer Woche) Sporen entwickeln. Die Sporenbildung geschieht so, daß der lange Hyphenfaden in seinem ganzen Verlauf oder wenigstens in seinem größten Teile zweizeilig kleine, kurze Seitenäste aussendet, die meist selbst einfache Conidienträger sind oder neben der endständigen Spore höchstens noch einen kurzen sekundären Conidienträger abgeben; eine weitere Verzweigung erfolgt nicht (Fig. 1). Wir sehen dann manchmal die meisten Myzeläste in ihrem ganzen Verlaufe mit kurzen Sporenträgern und Sporen besetzt, eine größere Anhäufung der letzteren findet nur an solchen Punkten statt, wo auch die Hyphenfäden in größerer Menge sich übereinander lagern. Durch diesen Befund ist die gleichmäßige Bestäubung der Kulturen in ihrer ganzen Fläche auf den Nährböden erklärt. Die Sporen sind verhältnismäßig groß, etwa 5 μ lang und 3 μ breit und haben alle eine Tropfenform, was mit der verhältnismäßigen Breite der Conidienträger zusammenhängt. „Spindeln" und „Wickeln" fehlen bei dieser Gruppe durchaus. Das geschilderte Bild erhält man bei den A-Pilzen immer, gleichgültig ob man das Material von einer Reinkultur auf Traubenzucker- oder Milchzuckeragar entnommen hat.

Ganz anders verhält sich die B-Gruppe in der „Epidermismikrokultur". Meist zeigt sich bereits ein Unterschied in der Dicke der Hyphenfäden, so daß man förmliche Hauptstämme hervortreten sieht. Die wichtigste Fruktifikationsform sind hier die „Spindeln", die ebenfalls ziemlich früh in den Kulturen als umgewandelte Enden der Haupt- oder der Seitenzweige 1. O., seltener im Verlauf eines Hyphenfadens entstehen; manchmal bleiben sie die einzige Fruktifikationsform. Die Bildung der eigentlichen Sporen dagegen, die meist spät auftritt, dehnt sich hier — zum Unterschied gegen die A-Gruppe — nicht über größere Partien der Hyphenfäden aus, sondern ist auf deren Enden bzw. auf die Enden der Seitenzweige beschränkt. Immer sind es nur einzelne Stellen der Kultur, die auch makroskopisch als sattweiße Pünktchen erscheinen, wo die Sporen gehäuft zur Entwicklung gelangen. An solchen Stellen bildet das betreffende Astende zahlreiche, mehrzeilig angeordnete seitliche Zweige, die sich immer weiter unterteilen, so daß wir beim Fehlen der Sporen (in manchen Kulturen kommen solche zusammengesetzte sterile Conidienträger häufig vor) das Bild eines reich verästelten Tannenbaumes vor uns zu sehen glauben. Jedes der kleinen Endzweigchen stellt einen Conidienträger dar, durch deren mehrzeilige Anordnung und die dadurch bedingte reichliche Sporenzahl massige Sporenkonglomerate entstehen, die täuschend einer dicht bestandenen Weintraube ähnlich sehen (Fig. 2). Die Sporen sind hier kugelrund und kleiner als bei der A-Gruppe (durchschnittlich 2,5 μ im Durchmesser). Bei dieser Pilzgruppe ist es im Gegensatz zu den A-Pilzen auch nicht gleichgültig, ob wir das Ausgangsmaterial zu der geschilderten Kultur auf dem Objektträger von einer Kolonie auf Traubenzuckeragar oder Milchzuckeragar nehmen. Nur im ersteren Fall entspricht der Befund dem oben geschilderten Bild, im letzteren Fall werden wir keinen Erfolg haben oder nur ein steriles Myzel ohne Sporenbildung er-

halten, da ja Milchzuckeragarkulturen der B-Pilze Sporenbildung erst im Alter aufweisen, und für das Angehen einer neuen Kolonie auf dem natürlichen Nährboden, der Haut (sei es unter den natürlichen Verhältnissen, z. B. beim Tierversuch, oder den künstlichen, wie unseren Objektträgerkulturen), Sporenmaterial unerläßlich ist. Auf den künstlichen Nährböden liegen die Verhältnisse anders, da genügt die Übertragung von Myzelfäden allein zur Erzeugung einer neuen, vollwertigen Kolonie.

Wir sehen also auch im Verhalten unserer Stämme in den künstlichen Epidermiskulturen wichtige Unterschiede zwischen den beiden von mir aufgestellten Gruppen, die um so interessanter sind, als sie uns vieles an der makroskopischen Erscheinungsform der Kulturen gut erklären.

Ergänzend will ich bemerken, daß ich auch das mikroskopische Verhalten der auswachsenden Pilze in den im technischen Abschnitt geschilderten Mikrokulturen fester Nährböden auf Objektträgern zum Vergleich heranzog, also ähnliche Verhältnisse schuf, wie sie auf unseren künstlichen Nährböden vorhanden sind. Ich konnte dabei im großen und ganzen denselben Entwicklungsverlauf feststellen, wie ich ihn eben geschildert habe, doch war die Zeit des Auftretens der einzelnen Fruktifikationsformen viel unregelmäßiger und ließ bei der B-Gruppr oft sehr lange auf sich warten. Mit Hilfe dieser Untersuchungsmethode ließ sich in geeigneter Weise ein eventueller Einfluß, den verschiedene Faktoren der Außenwelt, wie Feuchtigkeit, Trockenheit, Belichtung usw., auf die Bildung der verschiedenen Fruktifikationsformen ausüben könnten, verfolgen. Ich konnte dabei jedoch konstatieren, daß auch große Feuchtigkeitsunterschiede sich in dieser Richtung nicht geltend machten, nur schien mir hie und da besonders starke Trockenheit einen Ansatz zu endogener Sporenbildung (Oidienzerfall) zu veranlassen.

Was nun das besondere biologische Verhalten der beiden Pilzgruppen anlangt, so fand ich im Zuge von Versuchen über die Einwirkung verschiedener Farbstoffe auf die Kulturen, daß sie hinsichtlich des Neutralrotes ganz konstante und sehr auffällige Unterschiede darboten. Schon seinerzeit hatten Plato und Guth[1]) die Wirkung von Schimmel- und Trichophytonpilze auf diesen Farbstoff studiert, jedoch in der Art, daß sie bereits gewachsene Kulturen in Lösungen von reduziertem Neutralrot brachten, wobei sie eine Speicherung und Reoxydation des Neutralrotes in den Pilzen feststellen konnten. Auf diese Art sind keine Unterschiede zu erzielen, wohl aber wenn man direkt auf Neutralrotnährböden züchtet. Ich verwendete zunächst 1 proz. Traubenzuckeragar, dem ich 1 bis 2 Tropfen der konzentrierten Neutralrotlösung pro Röhrchen zusetzte, wie es für die bakteriologische Typhusdiagnose gebräuchlich ist. Auf diesem Nährboden wuchs jeder Stamm der A-Gruppe als zart rosaroter Flaum ohne Veränderung des Nährbodens, dagegen zeigte die B-Gruppe schneeweiße Kolonien und entfärbte den Nährboden zunächst im Bereiche der Kolonie, dann im ganzen Röhrchen, jedoch ohne Fluoreszenz.

Noch schöner ist der Prozeß, wenn man die Pilze in flüssigen Nährböden, z. B. im hängenden Tropfen von 1 proz. Traubenzuckerbouillon,

1) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 38. Bd., 1901.

der Neutralrot zugesetzt ist, züchtet (cf. Technischer Teil). Man kann dann bei der A-Gruppe auch nach Wochen die unveränderte rote Farbe des Nährbodens feststellen, während bei der B-Gruppe der Tropfen bald gelblich und dann ganz farblos wird. Bei mikroskopischer Untersuchung dieser im hängenden Tropfen wachsenden Kultur weisen die A-Pilze in den meisten Myzelfäden und in vielen Sporen größere oder kleinere rote Granula auf, während das Myzel der B-Pilze vollkommen farblos erscheint. Eine Erklärung für diese auffälligen aber sehr konstanten Differenzen der beiden Pilzgruppen kann ich nicht geben. Ganz anders ist das Verhalten gegenüber anderen Farbstoffen, z. B. dem allerdings in Wasser unlöslichen Farbstoff des B. prodigiosus. Wenn ich nämlich in Anlehnung an die Versuche von Marzinowsky[1]), der Schimmelpilze zusammen mit Prodigiosus züchtete und dabei die Aufnahme des Farbstoffes durch erstere beobachtete, durch längere Zeit Trichophytonpilze mit Prodigiosus auf demselben Nährboden wachsen ließ, so nahmen alle Stämme den Farbstoff auf und führten ihn in größeren oder kleineren Granula in den Hyphen. Allerdings war das Wachstum der Pilze bei dieser künstlichen Symbiose sehr reduziert, so daß es nicht zu makroskopisch sichtbaren Kolonien kam.

Weiterhin habe ich das Verhalten der Pilze zu dem Nährboden zugesetztem Methylenblau, Lackmustinktur und anderen geeigneten Farbstoffen untersucht, ohne über auffällige Resultate berichten zu können; durchwegs hatten die Pilze den Nährboden unverändert gelassen und auch den Farbstoff selbst nicht gespeichert.

Mit Rücksicht auf die bekannte Eigenschaft der Stoffwechselprodukte der Schimmelpilze, das Wachstum anderer Mikroorganismen zu fördern, züchtete ich verschiedene meiner Pilzstämme durch Wochen in Kölbchen mit Traubenzuckerbouillon, tötete die Pilze durch gerade ausreichendes Erwärmen, filtrierte die Nährlösung ab und züchtete dann in der so erhaltenen klaren, braungefärbten Bouillon vom Ausgangsmaterial verschiedene andere Stämme sowie die geläufigen Bakterien der Typhus-Coligruppe, doch war keinerlei Beeinflussung des Wachstums weder in förderndem noch in hemmendem Sinne zu konstatieren.

Endlich versuchte ich, wie so viele andere Autoren vor mir, jedoch mit demselben negativen Resultat, wie diese, eine Differenzierung der Stämme durch den Tierversuch. Alle meine Kulturen gehen auf der kurz geschorenen und mit Glaspapier leicht gescheuerten Haut des Meerschweinchens eingerieben an und erzeugen in etwa 10 Tagen herpetische Ringe, die jedoch bald wieder abheilen. Beide Gruppen, die A- und die B-Pilze, verursachen nur oberflächliche Erkrankungen, die untereinander keine Unterschiede erkennen lassen. Zu bemerken ist, daß ebenso wie zu den „Epidermismikrokulturen" auch zur Infektion der tierischen Haut sporenhaltiges Material verwendet werden muß, da bloße Myzelpartikel nicht imstande sind, festen Fuß zu fassen.

Über die interessanten Fragen des Pleomorphismus, des Polymorphismus sowie die Erscheinungen der Variabilität bei den Hautpilzen, die namentlich bei Verwendung einfacherer Stickstoffquellen in den Nähr-

1) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 73, 1913.

böden zu besonderen Ergebnissen führt, will ich in einer weiteren Mitteilung berichten.

Zum Schlusse ist noch die erwähnenswerte Tatsache zu berichten, daß sich die Kulturen, die ich von den untersuchten Trichophytiefällen erhielt, zu gleichen Teilen auf die A- und B-Gruppe verteilen; auffallender aber war noch eine besondere zeitliche Häufung der Vertreter der einzelnen Gruppen. So fanden sich unter dem ersten Dutzend gelungener Kulturen (November 1919 bis Februar 1920) mit Ausnahme von zwei A-Pilzen lauter solche aus der B-Gruppe, während umgekehrt unter dem zweiten Dutzend (März bis Mai 1920) lauter A-Stämme und nur ein B-Stamm zu verzeichnen war. Dabei rekrutierte sich das meist ambulante Krankenmaterial aus den verschiedensten Teilen der Stadt und deren Umgebung sowie aus den verschiedenen Gesellschaftsklassen und hatte untereinander gewiß keine Beziehungen; auch war ein Zusammenhang mit tierischen Hauterkrankungen mit Sicherheit auszuschließen. Über den klinischen Befund bei den untersuchten Fällen wird im Anhang der behandelnde Arzt, Dr. Ludovici, berichten.

Zusammenfassung.

Aus vorstehenden Untersuchungen lassen sich folgende Ergebnisse zusammenfassen:

1. Die von Sabouraud und anderen Autoren versuchte Unterteilung der Trichophytonpilze in eine größere Anzahl von Arten bzw. Varietäten bloß auf Grund des Aussehens von Massenkulturen auf künstlichen, wenn auch gleichmäßig zusammengesetzten Nährböden ist wegen der geringen Konstanz dieser Merkmale nicht befriedigend, vor allem für eine Artdiagnose vollkommen ungenügend.

2. Es ist dagegen möglich, bei gleichzeitiger Verwertung des Aussehens der Massenkulturen unter Berücksichtigung nur grundlegender, immer gleichmäßiger Merkmale, ferner der Fruktifikationsformen in dazu geeigneten „Epidermismikrokulturen" und endlich des Verhaltens der Pilze auf neutralrothaltigen Nährböden mehrere — wenigstens zwei — größere Gruppen zu unterscheiden, die im botanischen Sinne zumindest als Arten anzusprechen sind.

3. Auf Grund dieses Einteilungsprinzipes fand ich bei den in Graz zur Beobachtung gelangten Trichophytien zwei Gruppen von Erregern:

Die A-Gruppe, ausgezeichnet a) durch frühzeitige und reichliche Sporenbildung und demzufolge Entwicklung eines von Anfang an bestaubten Myzels auf allen Nährböden, das auf Traubenzuckeragar noch besondere Erscheinungsformen aufweist, b) durch einfache Sporenbildung auf kurzen, meist unverzweigten, zweizeilig angeordneten Conidienträgern, die entweder längs ganzer Hyphenzweige oder wenigstens ausgedehnterer Partien solcher entspringen, ohne Vorkommen

von „Spindeln", „Wickeln", Trauben und c) durch Unveränderlassen des Neutralrotagars, während Myzel und Sporen Neutralrot in sich speichern;

die B-Gruppe charakterisiert: a) durch anfängliche Bildung eines bloßen Luftmyzels, während sich die Sporenbildung erst viel später und immer auf einzelne Stellen der Kultur beschränkt einstellt, b) Bildung von „Spindeln", „Wickeln" und vor allem von dichten Trauben an den Enden von Haupt- oder Nebenästen, c) durch Entfärbung des Neutralrotagars, während der Pilz selbst den Farbstoff nicht aufnimmt.

Anhang.

Klin. Erläuterungen zu den vorstehenden von Hammerschmidt bakteriologisch untersuchten Fällen von Trichophytien von Dr. Bruno Ludovici.

Das hier bearbeitete Material stammt hauptsächlich aus Soldatenkreisen. Die Infektionsquellen ließen sich einerseits wegen der Vielseitigkeit der Erkrankung, anderseits wegen der Indolenz der Patienten nicht immer feststellen. Meist waren es aber Infektionen durch Barbierstuben, nur in einem Falle wird das Pferd als Infektionsträger angegeben. Die geringe Zahl der Fälle gestattet es auch nicht, mit Bestimmtheit besondere klinische Differenzen hervorzuheben. Die Behandlung war antiparasitär-symptomatisch.

Von den ersten 21 Fällen, bei denen Kulturen gelangen, gehörten 12 der Gruppe A an. Zehn von diesen Fällen zeigten das Bild der Trichophytia superficialis, ein Fall ging mit geringer Infiltration einher, ein Fall zeigte ebenfalls geringe Infiltration, welche auf eine Injektion von Trichophytin (Merk) unter starker Lokalreaktion der Injektionsstelle auffallend rasch zurückging. In keinem Falle kam es zu Eiterungen. Bemerkenswert ist die schnelle, unkomplizierte Heilung der superfiziellen und auch der zwei mit Infiltration einhergehenden Trichophytien sowie die prompte Reaktion des einen Falles auf Trichophytin.

Die restlichen neun Fälle gehören der Gruppe B an. Von diesen waren vier Fälle superfizielle Trichophytien, zwei gingen mit starker Infiltration und follikulärer Eiterung einher. Zwei Fälle, darunter einer von einer Tierinfektion (Pferd) herrührend, zeigten das Bild des Eccema marginatum, ein Fall verlief unter geringer Infiltration ohne Eiterung.

Es scheinen nun die klinischen Befunde mit den bakteriologischen-biologischen insoweit übereinzustimmen, als die durch die Gruppe A erzeugten Dermatomykosen einen leichteren, die durch Gruppe B erzeugten im allgemeinen einen schwereren Verlauf zeigen.

Ob und inwiefern diese Übereinstimmung zurechtbesteht, bleibt weiterer Forschung auf diesem Gebiete vorbehalten.

Erklärung der Figuren auf Tafel I:

Fig. 1. B-Pilz auf Maltoseagar (ca. 3 Wochen alte Kultur).

Fig. 2. A-Pilz auf Maltoseagar (ca. 3 Wochen alte Kultur).

Fig. 3. B-Pilz auf 4% Traubenzuckeragar (ca. 2 Monate alte Kultur).

Fig. 4. A-Pilz auf 4% Traubenzuckeragar (ca. 2 Monate alte Kultur).

Fig. 5. A-Pilz auf 4% Traubenzuckeragar (leichte Variation gegen den in Fig. 4 dargestellten sonst identischen Pilz).

Fig. 6. B-Pilz auf gewöhnl. 1% Traubenzuckeragar (mit Fleischwasser).

Fig. 7. A-Pilz auf gewöhnl. 1% Traubenzuckeragar (mit Fleischwasser).

Fig. 8. Derselbe Pilz wie Fig. 5, nur eine andere Generation, auf 4% Traubenzuckeragar. (Er entspricht in dieser Form dem Trichophyton crateriforme Sabouraud, dagegen in der Form von Fig. 5 dem Trichophyton cerebriforme Sabourand.)

Morphologie und Biologie der Trichophytiepilze. I.

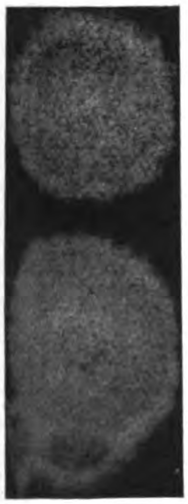


Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

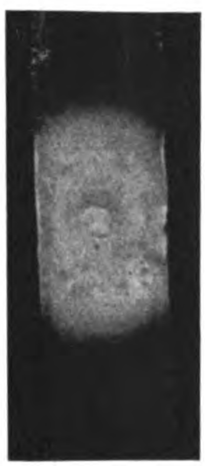


Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

Studien über die Desinfektionswirkung des Sublimates.

Von

Oberbezirksarzt Dr. **Viktor Gegenbauer.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Wien.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 31. August 1920.)

I. Einleitung.

Robert Koch[1]) sagt 1881 über die Desinfektionswirkung des Sublimates: „Sublimat ist das einzige Desinfektionsmittel, welches die für die Desinfektionspraxis so überaus wichtige Eigenschaft besitzt, ohne daß eine besondere Vorbereitung der Objekte durch Befeuchtung erforderlich wäre, schon durch seine einmalige Applikation einer sehr verdünnten (1:1000) Lösung in wenigen Minuten alle, auch die widerstandsfähigsten Keime der Mikroorganismen zu töten." Koch erhielt Wachstum von Milzbrandsporen nur bei einstündiger Einwirkung von 0,002-proz. und niedriger konzentrierter Sublimatlösungen auf diese Keime, während er durch 0,01—0,1-proz. Lösungen selbst bei bloß fünfminutiger Einwirkung Abtötung erzielte. Die Testkeime waren an Seidenfäden angetrocknet, die Entfernung des überschüssigen Desinfiziens nahm er durch Waschen mit Alkohol, die Nachkultur auf Gelatine vor.

Diese dominierende Stellung, die Koch dem Sublimat unter den chemischen Desinfektionsmitteln einräumte, ist jedoch bald erschüttert worden.

Schon durch Anwendung eines besseren Nährbodens bei sonst fast gleicher Versuchstechnik wie Koch erzielte 1889 Fränkel[2]) und ein Jahr später Nocht[3]) bei einstündiger Einwirkung einer 0,1-proz. Sublimatlösung auf Milzbrandsporen Wachstum. Ersterer nahm die Nachkultur in Bouillon, letzterer in einer Glc^ulinlösung vor. Bei Anwendung der von Geppert in die Prüfungstechnik der chemischen Desinfektionsmittel eingeführten Suspensionsmethode und Übertragen einer Öse der aus dem Gemisch Bakteriensuspension-Desinfektionsmittel auszentrifugierten Sporen auf Bouillon konnte 1894 Schäffer[4]) noch nach zweistündigem Verweilen dieser Keime in der gleich konzentrierten Sublimatlösung Wachtums, nach dreistündigem Verweilen Abtötung feststellen, während er ohne vorheriges Zentrifugieren durch direktes Übertragen einer Öse des Gemisches in das Nährmedium zu weit niedrigeren Anwachsungs- und Abtötungszeiten gelangte, ebenso wie mit derselben Methodik drei Jahre später Scheuerlen und Spiro[5]).

Schon 1891 hatte Geppert[6]), wenn er zu dem Gemisch Bakteriensuspension-Desinfektionsmittel vor dessen Übertragung in das Kulturmedium Lösungen von Sulfiden zusetzte noch nach dreitägiger Einwirkung einer 0,1-proz. Sublimat-

lösung auf Milzbrandsporen Wachstum erzielt. Die Resultate Gepperts wurden 1892 durch Heider[7]) bestätigt und dann 1911 durch die Versuchsergebnisse von Ottolenghi[8]), der die von Geppert angeregte Methodik namentlich durch Einführung eines besseren Nährbodens zur Nachkultur modifizierte, weit übertroffen. In demselben Jahre kamen Croner und Naumann[9]) und 1914 Gegenbauer[10]) bei der Anwendung der Ottolenghischen Versuchstechnik noch zu bedeutend höheren Anwachsungszeiten als Ottolenghi selbst. Ottolenghi konnte nach neuntätigem, Croner und Naumann nach 28-tägigem Aufenthalt von Milzbrandsporen in 1,1356-proz. Sublimatlösungen noch Wachstum erhalten, Gegenbauer fand sie noch nach 100-tägigem Verweilen in 0,1-proz. Lösungen lebensfähig.

Weit günstiger ließen die Versuchsergebnisse von Behring[11]), Schäffer[4]), Krönig und Paul[12]), Bellei[13]) und Reichenbach[14]) die Desinfektionswirkung des Sublimates erscheinen, was wohl auf der Anwendung einer abweichenden Dosierung der verwendeten Sulfidlösung, zum Teil auch auf der Verwendung eines anderen Trägermittels der Keime und eines weniger guten Nährbodens beruhen dürfte. Eine Reihe anderer Autoren brachen die Versuche zu frühzeitig ab bzw. arbeiteten mit zu geringen Konzentrationen, als daß die Resultate ihrer Versuche zum Vergleiche herangezogen werden könnten (Nissen[15]), Nocht[3]). Bellei[13]) bei Anwendung der Suspensionsmethode, Madsen und Nymann[16]), Xylander[17]), Reymann und Nymann[18]), Abt[19]).

Im Jahre 1914 erhielt dann Gegenbauer[10]) ohne Anwendung von Sulfiden durch Zentrifugieren und Dekantieren der Milzbrandsporen, die 20 Tage der Wirkung einer 0,01-proz., 8 Tage der einer 0,1-proz. und einer 1,0-proz. bzw. 2 Tage einer 2-proz. Sublimatlösung ausgesetzt waren, noch Wachstum, somit nach Zeiten, die weit höher lagen, als die von jenen Autoren beobachteten, die nach ähnlicher Methodik ohne vorherigen Zusatz von Sulfiden die Keime in das Nährmedium übertragen hatten.

Weit weniger resistent waren Staphylokokken, wie ja zu erwarten war. Aber auch ihnen gegenüber erwies sich Sublimat lange nicht so wirksam, als man anfangs annahm. Ohne Anwendung von Sulfiden erhielten bei verschiedener sonstiger Methodik Speck[21]) noch nach 20-minutiger Einwirkung einer 0,17-proz., Steiger u. Döll[22]) nach 5-minutiger einer 0,05-proz., Schöller u. Schrauth[23]) nach 5-minutiger einer 0,34-proz. bzw. 7-minutiger einer 0,17-proz. Sublimatlösung Wachstum. Bei der Behandlung der Keime mit Sulfiden oder Schwefelwasserstoff vor der Übertragung in das Kulturmedium rückt die Anwachsungszeit, namentlich bei der Anwendung der Methodik Ottolenghis bedeutend in die Höhe. So fand Schumburg[24]) nach 45-minutigem, Speck[21]) nach 70-minutigem Verweilen in 0,1-proz. Sublimatlösung, Paul und Prall[25]) nach 60-minutigem Aufenthalt in 0,05-proz. Sublimatlösung noch Wachstum. Chick und Martin[26]) erzielten nicht vor 15 Minuten Abtötung durch 5,0-proz. Sublimatlösung. Nach Ottolenghi[8]) und Croner und Naumann[9]) bewirken selbst 2,712-proz. Lösungen nach 8½ bzw. 3 Stunden keine Vernichtung der Keime.

Es ergibt sich daher nach den in der Literatur vorhandenen Angaben für die in der Desinfektionspraxis übliche Konzentration von 0,1% Sublimat:

	Höchste Anwachsungszeit	Niederste sichere Abtötungszeit
für Milzbrandsporen		
ohne Anwendung von Sulfiden (Gegenbauer)	8 Tage	10 Tage
bei Anwendung von Sulfiden (Gegenbauer)	100 Tage	
für Staphylokokken		
ohne Anwendung von Sulfiden (Speck)	20 Minuten	
bei Anwendung von Sulfiden (0,1356%) (Croner und Naumann)	3 Tage	4 Tage

Die Desinfektionsversuche ergaben somit bezüglich der höchsten Anwachsungszeit einen beträchtlichen Unterschied, je nachdem durch sorgfältiges Waschen die anhaftenden Sublimatspuren entfernt wurden oder man zu diesem Zwecke Sulfide oder Schwefelwasserstoff zusetzte. Während die nach der ersten Methodik angestellten Desinfektionsversuche zeigten, daß zwar an eine Desinfektionswirkung, wenn auch nicht gerade an eine kurzfristige von Sublimat gegenüber Milzbrandsporen zu denken sei, ließen es die mit der letzteren Methodik durchgeführten Versuche fraglich erscheinen, ob man überhaupt praktisch von einer solchen Wirkung diesen Sporen gegenüber sprechen könne. Staphylokokken waren weit weniger resistent. Immerhin erwiesen sich auch diese vegetativen Formen erst nach mehrtägiger Einwirkung der gebräuchlichen Sublimatkonzentration als abgetötet, wenn das überschüssige Desinfiziens auf chemischem Wege entfernt wurde.

Gegen das Prinzip, die anhaftenden Spuren des Desinfiziens durch Schwefelwasserstoff oder durch Sulfide zu entfernen, kann der Einwand erhoben werden, daß hiedurch nicht nur das anhaftende und das eventuell absorbierte oder adsorbierte Sublimat in unlösliches Quecksilbersulfid übergeführt werden, sondern daß auch eine eventuelle Bindung zwischen dem Sublimatmolekül und den Stoffen der Keime, namentlich dessen Proteinen gesprengt und damit eine in der Praxis irreversible Zustandsänderung reversibel gemacht werden könnte. Dieser Einwand setzt das Bestehen einer durch gewöhnliches Waschen nicht sprengbaren Bindung zwischen Sublimat oder Quecksilber und Eiweiß der Keime voraus und kommt für den Fall, daß diese Annahme zutrifft, nur dann in Betracht, wenn die Gewähr gegeben ist, daß die der Sublimatdesinfektion unterworfenen Keime nicht hinterher in ein Medium gelangen, das Schwefelwasserstoff oder Sulfide enthält. Letzteres kann aber bei einem Teil der hygienischen Desinfektionen der Fall sein, da beispielsweise in Abwässern, Weichwässern von Gerbereien, im Stuhl, Harn und Sputum die Möglichkeit der Bildung von Schwefelwasserstoff und Sulfiden zufolge ihres Gehaltes an faulenden organischen Stoffen gegeben ist.

Es würde somit, im Falle des Bestehens solcher Verbindungen die Desinfektionskraft des Sublimates je nach dem Zweck verschieden zu bewerten sein, ein Punkt, auf den bereits Chick und Martin[26]) und Bechhold[29]) hingewiesen haben.

Die aus den vorliegenden Desinfektionsversuchen zu ziehenden Schlüsse hängen daher von der Klarstellung des chemischen und physikalischen Verhaltens von Sublimat zu Mikroorganismen ab.

Ein Teil der Autoren, die sich mit der Frage der Sublimatdesinfektion befaßten, nehmen eine Bindung zwischen dem Sublimat und bestimmten Leibessubstanzen der Mikroorganismen an. So schloß Geppert[6]) aus dem Umstand, daß er nur bei der Anwendung eines Überschusses von Schwefelammon die höchsten Anwaschungszeiten erhielt, daß das Sublimat mit der Spore eine Verbindung eingegangen war, die nur durch einen Überschuß des Sulfides gesprengt werden konnte. Chick und Martin[26]) und Steiger und Döll[22]) kamen auf Grund der Beobachtung, daß sich in Keimen, die der Wirkung des Sublimates ausgesetzt waren, trotz nachherigem

Zentrifugierens und Waschens Quecksilber nachweisen ließ zu demselben Schlusse. Der Meinung dieser Forscher schlossen sich Speck[21]) und Reymann und Nymann[18]) an.

Gegen die Argumentation Gepperts läßt sich einwenden, daß zum Ausfällen unlöslichen Quecksilbersulfides stets ein Überschuß von Sulfid erforderlich ist. Die Versuche von Chick und Martin und Steiger und Döll schließen die Deutung nicht aus, daß das Sublimat an die Keime adsorbiert oder von ihnen absorbiert wurde. Da nämlich das Adsorbens das Adsorpte nur langsam abgibt und auch im Falle einer Absorption beim Bestehen von Diffusionsschwierigkeiten ein Ausgleich zwischen fester und flüssiger Phase nur langsam erfolgt, wäre auch nach längerem Zentrifugieren und Waschen ein Verbleiben von Sublimatresten unmittelbar an bzw. in den Keimen denkbar.

Morawitz[30]) und Herzog und Betzel[31]) kamen auf Grund ihrer Versuche mit Pferdeblutkörperchen bzw. Hefe zu dem Schlusse, daß Sublimat zunächst von diesen Zellen in der Form eines reversiblen Adsorptionsprozesses aufgenommen werde. Die Frage der Art der spezifischen Giftwirkung ließen sie offen. Morawitz[32]) berechnete auch die Daten Krönig und Pauls und stellte die für die Giftwirkung des Sublimates gegenüber Bakterien gefundene Gleichung als Adsorptionsgleichung hin.

Eisenberg und Okolska[33]) und Croner und Naumann[9]) nehmen auch eine Adsorption des Sublimates an die Bakterien an. Während aber Croner und Naumann der Ansicht sind, daß die Desinfektionswirkung des Sublimates allein auf der Adsorption beruhe, schließen die beiden anderen Autoren aus dem Umstande, daß bei fraktioniertem Zusetzen einer gewissen Menge Bakterienaufschwemmung zu einer bestimmten Menge Desinfiziens höhere Anwachsungszeiten erzielt wurden, als wenn diese Mengen auf einmal zusammengebracht wurden, auf ein wenigstens teilweises Übergehen des anfänglich reversiblen Adsorptionsprozesses in einen sekundären irreversiblen Vorgang, der dann die Abtötung bewirkte. Dieser Deutung der Versuche liegt die Annahme zugrunde, daß das Adsorbens das adsorbierte Desinfiziens bei Zusatz frischen Adsorbens leicht abgebe, eine Annahme, die mit den Gesetzen der Adsorption nicht vollständig in Einklang steht.

Eisenbergs und Okolskas Versuche haben daher ebensowenig wie die der vorher erwähnten Autoren das Bestehen einer Verbindung zwischen Sublimat oder Quecksilber und dem Eiweiß der Keime bewiesen.

Das Bestehen einer solchen Verbindung ist aber nach dem heutigen Stande der Frage der Beziehungen zwischen Eiweiß und Metallsalzen äußerst wahrscheinlich. Nachdem Bonamartini und Lombardi[34]) aus Eiweißlösungen mit konstantem Albumingehalt durch Zusatz steigender Mengen von Kupfersulfat Kupferalbuminate von annähernd konstantem Kupfergehalt erhalten und Pfeiffer und Modelski[35]) gezeigt hatten, daß Aminosäuren und Polypeptide mit Metallsalzen Verbindungen nach stöchiometrischen Verhältnissen geben, hat 1914 Lippich[36]) den Nachweis erbracht, daß Zinkalbuminat stöchiometrischer Natur ist. Im Gegensatz zu diesen Autoren kamen allerdings Pauli[37]), Galeotti[38]) und Pauli und Flecker[39]) auf Grund ihrer Versuche zu der Annahme, daß bei der

Bildung von Metallalbuminaten stöchiometrische Verhältnisse nicht vorliegen können. Doch dürften diese Autoren, worauf Lippich hinweist, die reinen physikalisch-chemischen Methoden allzusehr bevorzugen und der chemischen Analyse bei der Klarstellung solcher Fragen zu wenig Beachtung schenken. Die Ergebnisse der Versuche von Vignon[40]) und Schellens[41]) zeigen, daß auch von Textilfasern und Wolle Quecksilber fix gebunden wird. Sie tauchten diese Objekte in Sublimatlösungen, nahmen sie nach bestimmten Zeiten heraus und konnten in ihnen auch dann Quecksilber nachweisen, wenn sie mit Wasser gründlich ausgewaschen waren.

Die vorliegenden Untersuchungen verfolgten nun den Zweck, die Frage der chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Sublimat und Mikroorganismen, die bisher als ungeklärt und auch als ungenügend bearbeitet gelten mußten, einem eingehenderen Studium zu unterwerfen, und dann die bisherigen Ergebnisse der Desinfektionsversuche mit Sublimat durch weitere Untersuchungen, namentlich bezüglich der Desinfektionskraft gegenüber vegetativen Formen (Staphylokokken) zu ergänzen; endlich sollen auf Grund der erhaltenen Resultate die Desinfektionskraft des Sublimates nach den bereits eingangs skizzierten Gesichtspunkten für die Praxis bewertet und schließlich die Theorie der desinfizierenden Sublimatwirkung erörtert werden.

II. Das chemische und physikalische Verhalten von Sublimat gegenüber Mikroorganismen.

Es erschien zunächst zweckmäßig, das Verhalten von Sublimat gegenüber den wichtigsten in den Zellen vorhandenen Stoffen selbst in analoger Weise klarzulegen, wie dies bezüglich des Phenoles von Reichel[42]) geschehen ist. Als Eiweißsubstanz wurde hitzekoaguliertes Serum (Rinderserum), als ölige Phase Rüböl genommen. Diese Grundversuche wurden dann durch Versuche mit Hefe ergänzt. Das hitzekoagulierte Serum bietet als fester Körper versuchstechnisch Vorteile vor dem nativen, da bei seiner Verwendung infolge der Einfachheit der Versuchsanordnung die Häufung zahlreicher Einzelversuche möglich wird, wodurch die Zuverlässigkeit der Feststellungen gewinnt. Da aber der Koagulationsprozeß eine Denaturierung bedeutet, war an die Möglichkeit eines abweichenden Verhaltens von dem des nativen Eiweißes dem Sublimat gegenüber zu denken. Die gute Übereinstimmung der Resultate der Versuche mit koaguliertem Eiweiß und der mit Hefezellen bewies, daß sich im vorliegenden Falle die mit koaguliertem Rinderserum erhaltenen Resultate auf Zelleiweiß übertragen lassen.

1. Das Verhalten von Sublimat gegenüber koaguliertem Rinderserum.

Die ersten Versuche hatten somit die Aufgabe das Verhalten von Sublimat gegenüber koaguliertem Rinderserum festzustellen.

Hiezu wurden Stückchen koagulierten Rinderserums mit verschieden konzentrierten Sublimatlösungen durch verschiedene Zeiten in Berührung gebracht und die aus der Flotte verschwundenen Quecksilber- und Chlor-

mengen ermittelt. Nachdem dann festgestellt war, daß bei dieser Anordnung Sublimat aus der Flotte wirklich verschwindet und daß die verschwundene Sublimatmenge zum Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung tritt, wurde die Art dieser Beziehung näher bestimmt.

Für jede Versuchsreihe wurde eine eigene Portion Rinderserum im Dampftopf koaguliert, das Koagulum zerschnitten und die erhaltenen Stücke in fließendem Hochquellenwasser mehrere Tage gewaschen, hernach zum Abtropfen des anhaftenden Wassers für einige Stunden in einen Trichter gegeben und dann sofort für die Versuche verwendet. Nur bei der Versuchsreihe I fand insoferne eine andere Art der Bereitung statt, als bei ihr die Koagulumstückchen vor der Verwendung für einige Tage in einen Exsikkator gegeben wurden.

Vor allem war es erforderlich, für jedes in den einzelnen Versuchsreihen verwendete Material von hitzekoaguliertem Serum (Ausgangskoagulum) die Zusammensetzung, also das relative Verhältnis aller Bestandteile in g/g und die relativen Volumina in ccm/g der einzelnen im Koagulum vorhandenen Phasen mit hinreichender Genauigkeit festzulegen. Hierzu war das spezifische Gewicht und das Trocken-, Wasser-, Asche- und Chlorgewicht des feuchten Koagulums zu bestimmen. Mit den bei diesen Bestimmungen gewonnenen Werten konnten dann die nötigen Berechnungen ausgeführt werden. Für die Berechnung der spezifischen Volumina wurde eine Annahme über den Quellungszustand der Koagula zugrundegelegt, die Reichel[42]) ausführlich begründet hat. Es wurde das Koagulum als aus einer praktisch wasserfreien Eiweißphase und einer wässerigen Lösung wasserlöslicher Salze bestehend betrachtet. Die wasserunlösliche Asche konnte dann entweder als in der Eiweißphase, sei es chemisch, sei es mechanisch gebunden oder als dritte mineralische Phase im Koagulum gegenwärtig betrachtet werden.

Ein übertrieben genaues Rechnen war für unseren Fall hier und auch bei den späteren Berechnungen nicht am Platze. Wenn auch das Einwägen der feuchten Koagulumstückchen in geschlossenen Wägegläschen bzw. in mit gut schließenden Stöpseln versehenen Kolben ausgeführt wurden, so daß die Wasserverdunstung während der Wägung nach Möglichkeit vermieden wurde, konnten doch die einzelnen Koagulumstückchen, die zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes und der Zusammensetzung des feuchten Koagulums, sowie für die Einzelversuche verwendet wurden, schon vor der Wägung in verschiedenem Grade Wasser oberflächlich anhaften haben bzw. konnte dieses ihnen durch Verdunstung entzogen sein. Die Fehler bei der Einwage beeinflussen natürlich die Genauigkeit aller sich an sie anschließender Bestimmungen, sowie auch die des spezifischen Gewichtes des feuchten Koagulums und des Gewichtes des Trockenkoagulums, des Eiweißes, des Wassers und des Kochsalzes.

Das Einwägen für die Einzelversuche einer Versuchsreihe, das Einwägen für die Wasser-, Aschen- und Chlorbestimmung des feuchten Koagulums und die für die Ermittlung seines spezifischen Gewichtes nötigen Wägungen wurden in unmittelbarer Aufeinanderfolge und somit bei der gleichen Temperatur ausgeführt. Um die Wasserverdunstung während der Wägung nach Möglichkeit zu verhüten, erfolgte die Wägung der Koagulumstückchen in geschlossenen Wägegläschen bzw. in Kolben mit gut schließenden Stöpseln.

Wegen des Nichtfunktionierens der Heizanlagen im Wägezimmer herrschte nicht bei den Wägungen aller Versuchsreihen die gleiche Temperatur, jedoch fanden die Wägungen ein und derselben Bestimmung bzw. Versuchsreihe bei ziemlich derselben Temperatur statt. Jedenfalls waren die Temperaturdifferenzen niemals so stark, daß sie unter den gegebenen Bedingungen von Einfluß auf die Resultate gewesen wären.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes der feuchten Koagula erfolgte durch Wägung nach der Pyknometermethode. Der ermittelte Wert wurde auf den leeren Raum und auf Wasser von 4° C reduziert.

Der Gehalt an Trockenkoagulumgewicht (m_{tc}) und Aschengewicht (m_a) in g/g wurde durch Wägung bestimmt. Der Gehalt an Wassergewicht (m_{H_2O}) und Eiweißgewicht (m_e) in g/g ergab sich nach den Formeln

$$m_{H_2O} = 100 - m_{tc} \quad \text{und} \quad m_e = m_{tc} - m_a.$$

In der Asche wurde qualitativ Natrium, Kalzium, Magnesium, Chlor, Schwefelsäure und Phosphorsäure nachgewiesen. Wegen der Größe der Einwage (10—20 g) und der bedeutenden Unterschiede der spezifischen Gewichte des feuchten und des trockenen Koagulums einerseits und der Messinggewichte anderseits war die Durchführung der Reduktionsrechnung bei den Wägungen dieser Substanzen erforderlich. Für die Aschenwägungen war eine solche Reduktionsrechnung nicht notwendig, da von diesen Substanzen nur wenige hundertstel Gramme zur Wägung kamen. Für das feuchte Koagulum ergab sich der Reduktionsfaktor einfach aus dem jeweilig ermittelten Werte des spezifischen Gewichtes. Er betrug bei den Versuchsreihen II, III, IV, VIII, IX 1,03, bei den Versuchsreihen V, VI, VII 1,02 und bei der Versuchsreihe I 1,01.

Etwas umständlicher war die Ermittlung des spezifischen Gewichtes beim trockenen Koagulum. Dieser Wert mußte berechnet werden, da eine nur einigermaßen exakte Bestimmung weder nach der Pyknometer- noch nach der Schwebemethode gelang. Die nach diesen Methoden gefundenen Werte waren stets viel niedriger als die bei einer beiläufigen Rechnung erhaltenen. Die Erklärung gab die Beobachtung des Verhaltens der Trockenkoagulumstückchen im Wasser. Aus den ins Wasser geworfenen Stückchen sah man stets Luftblasen entweichen, die teilweise an den Stückchen hängen blieben. Ein Teil der Substanz schwamm sogar auf dem Wasser. Offenbar entstehen durch die Wasserverdunstung lufterfüllte Räume. Durch Drücken mit dem Glasstab ließ sich die Luft aus den Hohlräumen und die Luftblasen, die den Koagulumstückchen anhafteten, in nur ganz unzulänglichem Ausmaße entfernen. Ein Zerreiben der getrockneten Koagulumstückchen führte nicht zu dem gewünschten Erfolg, da auch an den einzelnen Partikelchen Luftblasen hafteten.

Für die Berechnung ergab sich das spezifische Gewicht des trockenen Koagulums nach der Formel $s_{tc} = \frac{m_{tc}}{v_{tc}}$ durch Division des Gewichtes des trockenen Koagulums durch sein Volumen. Zur Berechnung des Volumens des trockenen Koagulums wurde angenommen, daß die Asche aus im Wasser des feuchten Koagulums gelösten Kochsalz und dann hauptsächlich aus neutralen bei der Hitzekoagulation in unlöslicher Form ausgeschiedener Karbonaten und Phosphaten der Erdalkalien bestehe. Das Gewicht des ersteren war durch die Chlorbestimmung ermittelt, das der letzteren — der wasserunlöslichen Asche — durch Abzug des Kochsalzgewichtes von der Gesamtasche berechnet. Diese Annahme erschien wohl von vornherein als gegeben, da die Asche durch das mehrtägige Waschen hauptsächlich aus wasserunlöslichen Salzen bestehen mußte. Gestützt wurde sie durch die festgestellte Tatsache, daß sich das Kochsalz — der Hauptrepräsentant der wasserlöslichen Salze — im gewaschenen Koagulum auf 3 bis 9,7% seines Gehaltes im Serum, die übrigen Salze, unter denen sich die durch Hitzekoagulation unlöslich abgeschiedenen Karbonate und Phosphate befanden, nur auf 36—54% ihres Gehaltes im Serum verringert hatten. Während nämlich im Serum die Gesamtasche ungefähr 0,9%, das Kochsalz 0,6% und die übrigen Salze 0,3% ausmachen, betrugen diese Werte im verwendeten gewaschenen Koagulum in derselben Reihenfolge 0,134—0,209%, 0,018—0,057% und 0,109 bis 0,163%. Ferner wurde angenommen, daß die außer den Eiweißkörpern im Serum vorhandenen organischen Stoffe durch das mehrtägige Waschen ganz oder bis zu praktisch belanglosen Resten ausgewaschen waren.

Unter Berücksichtigung dieser Annahmen ergab sich daher mit einer für die vorliegenden Verhältnisse genügenden Genauigkeit die Zusammensetzung der Koagula wie folgt. Das feuchte Koagulum bestand aus Eiweiß, wasserunlöslicher Asche und einer wässerigen Kochsalzlösung, das trockene Kaogulum aus Eiweiß und Gesamtasche, das ist der Summe der wasserunlöslichen Asche und dem in der wässerigen Kochsalzlösung enthaltenen und beim Trocknen ausgeschiedenen Kochsalz.

Der Gehalt an Kochsalzgewicht in g/g (m_{NaCl}) ergab sich aus der Kochsalzbestimmung, der an Gewicht der wasserunlöslichen Asche (m_{ula}) nach der Formel

$$m_{ula} = m_a - m_{NaCl}.$$

Das Volumen des trockenen Koagulums war zu erhalten, wenn man vom Volumen des feuchten Koagulums das Volumen der im feuchten Koagulum vorhandenen Kochsalzlösung abzog und das Volumen des bei der Trocknung aus dieser Kochsalzlösung ausgeschiedenen Kochsalzes hinzuaddierte.

$$v_{tc} = v_c - v_{H_2O + NaCl} + v_{NaCl} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 1)$$

Der Wert für das relative Volumen des feuchten Koagulums in ccm/g wurde nach der Formel

$$v_c = \frac{m_c}{s_c} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 2)$$

durch Division der Zahl 100 durch das spezifische Gewicht des feuchten Koagulums erhalten.

Zur Berechnung des relativen Volumens wässriger Kochsalzlösung in ccm/g

$$v_{H_2O + NaCl} = \frac{m_{H_2O + NaCl}}{s_{H_2O + NaCl}} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 3)$$

war zum Gehalt des Koagulums an Wasser in g/g der aus der Kochsalzbestimmung bekannte Gehalt an Kochsalz in g/g zu addieren, um den Gehalt in g/g an wässeriger Kochsalzlösung $m_{H_2O + NaCl}$ zu erhalten, sodann aus dem Verhältnis von Kochsalz zu Wasser der Gewichtsprozentgehalt der wässerigen Kochsalzlösung zu berechnen und das diesem Gewichtsprozentgehalt entsprechende spezifische Gewicht $s_{H_2O + NaCl}$ durch Interpolation aus den Kohlrauschschen Angaben zu entnehmen.

Durch Interpolation aus den Kohlrauschschen Angaben berechnete Tabelle der spezifischen Gewichte von Kochsalzlösungen bei 18° C, bezogen auf Wasser von 4° C.:

Spezifisches Gewicht $s_{H_2O + NaCl}$:	% NaCl g/g
0,99862	0,00
1,00007	0,01
1,00014	0,02
1,00022	0,03
1,00029	0,04
1,00036	0,05
1,00043	0,06
1,00050	0,07
1,00057	0,08
1,00065	0,09
1,00072	0,10

Die Kohlrauschschen Werte und somit die aus ihnen gerechnete Tabelle beziehen sich auf Lösungen bei 18° C. Die Wägungen einer Versuchsreihe (III) wurde bei dieser Temperatur die zweier weiterer (II und IV) bei ziemlich nahe an 18° C liegenden Temperaturen ausgeführt. Bei den übrigen Versuchsreihen (I, V, VI, VII, VIII, IX) lag die Wägungstemperatur allerdings etwas weiter von 18° C entfernt. Doch sind bei den niederen Konzentrationen der Kochsalzlösungen, wie sie für die vorliegende Berechnung allein in Frage kamen, die Unterschiede der spezifischen Gewichte verschieden temperierter Lösungen innerhalb der hier in Betracht kommenden Grenzen (12° C bis 24° C), wie ein Vergleich mit einer durch Interpolationsrechnung aus den Gerlachschen Angaben für Lösungen von 15° C berechneten Tabelle ergab, so geringfügig, daß praktisch auch für diese Temperaturen die obige Tabelle benützt werden konnte.

Das relative Kochsalzvolumen in ccm/g ergab sich nach der Formel

$$v_{NaCl} = \frac{m_{NaCl}}{2{,}13} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \quad 4)$$

wo m_{NaCl} den Gehalt in g/g an Kochsalz und 2,13*) das spezifische Gewicht des Kochsalzes bedeutet.

*) Auch die anderen in Betracht kommenden wasserlöslichen Salze haben ähnliche spezifische Gewichte: $CaSO_4 = 2{,}97$ $Na_2CO_3 = 2{,}5$, $MgCl_2 = 1{,}558$, $MgSO_4 = 2{,}65$, $Na_2SO_4 = 1{,}48$, $CaCl_2 = 2{,}24$.

Setzt man nun in Gleichung 1 die rechtstehenden Ausdrücke der Gleichungen 2 bis 4 ein, so erhält man für das relative Volumen des Trockenkoagulums

$$v_{tc} = \frac{m_c}{s_c} - \frac{m_{H_2O + NaCl}}{s_{H_2O + NaCl}} + \frac{m_{NaCl}}{2{,}13} \quad \ldots \ldots \quad 5)$$

und für sein spezifisches Gewicht

$$s_{tc} = \frac{m_{tc}}{\frac{m_c}{s_c} - \frac{m_{H_2O + NaCl}}{s_{H_2O + NaCl}} + \frac{m_{NaCl}}{2{,}13}} \quad \ldots \ldots \quad 6)$$

Die für die Berechnung des spezifischen Gewichtes des Trockenkoagulums erforderlichen Komponenten sind somit alle auf einfache Weise zu gewinnen. Nur setzt die Formel eigentlich schon das Bekanntsein des gesuchten spezifischen Gewichtes des Trockenkoagulums zur Reduktion des durch Wägung festgestellten Gewichtes des Trockenkoagulums voraus. Da jedoch durch diese Reduktion nur eine kleine Korrektur des gefundenen Wertes erzielt wird, so wurde zunächst das gefundene Trockenkoagulumgewicht mit dem durch die Pyknometermessung gewonnenen höchsten Näherungswert reduziert. Mit den auf diese Weise gewonnenen m_{tc}- und m_{H_2O}-Werten wurde das spezifische Gewicht des Trockenkoagulums in erster Annäherung berechnet. Nun wurde mit diesem gewonnenen Näherungswert des spezifischen Gewichtes des Trockenkoagulums die Reduktionsrechnung nochmals durchgeführt und dann das spezifische Gewicht des Trockenkoagulums neuerdings berechnet, was nur eine Korrektur um wenige Einheiten in der vierten Dezimale ergab.

Das arithmetische Mittel der bei den einzelnen Versuchsgruppen erhaltenen Werte lautet 1,3376, der mittlere Fehler der Einzelmessung $e = \pm 0{,}0145$, der mittlere Fehler des Mittelwertes $E = \pm 0{,}0048$, woraus sich als mittlerer Wert für das spezifische Gewicht des Trockenkoagulums ergibt

$$s_{tc,\,med} = 1{,}3376 \pm 0{,}00145$$

und als Variationskoeffizient (perzentuelles Verhältnis des mittleren Fehlers der Einzelmessung zum arithmetischen Mittel) der Wert 1,08%, was in Anbetracht der schon erwähnten Fehlerquellen bei der Wägung und des variablen Aschengehaltes des Trockenkoagulums als eine leidlich gute und für die vorliegenden Zwecke sicherlich hinreichende Übereinstimmung der gefundenen Werte angesehen werden darf. Mit Hilfe des diesem Mittelwert entsprechenden Reduktionsfaktors $K = 0{,}75$ wurden alle mit Messinggewichten ausgeführten Wägungen der Trockenkoagula auf den leeren Raum reduziert.

Zur Bestimmung des Kochsalzes wurde eine gewogene Partie des feuchten Koagulums in einer Nickelschale mit Wasser übergossen, Soda und Salpeter zugesetzt und nach dem Abdampfen der Hauptmenge des Wassers am Wasserbade im Trockenschrank getrocknet und dann bei gelinder Wärme verascht. Die erkaltete Schmelze wurde unter Erwärmen in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert und das Chlor in der Lösung nach Volhard bestimmt. Das gefundene Chlor wurde als an Natrium gebunden angenommen.

Die Berechnung des relativen Volumens des feuchten Koagulums, der wässerigen Kochsalzlösung und des Kochsalzes wurde bereits gesprochen. Somit erübrigt sich nur noch die Darlegung der Berechnung des relativen Volumens der wasserunlöslichen Asche und des Eiweißes in ccm/g.

Das relative Volumen der wasserunlöslichen Asche in ccm/g ergab sich nach der Formel

$$v_{ula} = \frac{m_{ula}}{2{,}8} \quad \ldots \ldots \ldots \quad 7)$$

durch Division des perzentuellen Gehaltes in g/g an wasserunlöslicher Asche durch die Zahl 2,8.

Der Wert 2,8 für das spezifische Gewicht der wasserunlöslichen Salze ist der Mittelwert der spezifischen Gewichte der hauptsächlich in Betracht kommenden Salze wie

$CaSO_4 = 2{,}72$	$Ca_3(PO_4)_2 = 3{,}18$	$CaCO_3 = 2{,}70$
$MgSO_4 = 2{,}90$	$Mg_2P_2O_7 = 2{,}40$	$MgCO_3 = 2{,}90$

Das relative Eiweißvolumen in ccm/g endlich ergab sich als Differenz des relativen Volumen des feuchten Koagulums und der Summe der relativen Volumina der im feuchten Koagulum enthaltenen wässerigen Kochsalzlösung und der wasserunlöslichen Asche

$$v_e = v_c - (v_{H_2O\,+\,NaCl} + v_{ula}) = \frac{m_c}{s_c} - \left(\frac{m_{H_2O\,+\,NaCl}}{s_{H_2O\,+\,NaCl}} + \frac{m_{ula}}{2{,}8}\right) \quad . \quad 8)$$

Die Resultate dieser Bestimmungen und Berechnungen sind in Tabelle 1 dargestellt.

Wie bereits erwähnt, wurde das Einwägen für die Einzelversuche einer Versuchsreihe, das Einwägen für die Bestimmung der Zusammensetzung der verwendeten Koagulumpartien sowie die für die Ermittlung seines spezifischen Gewichtes nötigen Wägungen unmittelbar hintereinander ausgeführt. Hiedurch sollte eine möglichst gute Übereinstimmung der Zusammensetzung der verwendeten Koagulumstückchen einer Versuchsreihe untereinander und mit der ermittelten erzielt werden.

Sofort nach Beendigung der Wägungen wurden die mit gut schließenden Glasstopfen versehenen Erlenmayerkolben, in denen die für die einzelnen Versuche bestimmten Koagulumstückchen eingewogen waren, in jeder Versuchsreihe mit der gleichen Menge (meist 100 ccm, bei den Versuchen der Versuchsreihe IV 50 ccm) verschieden konzentrierter Sublimatlösungen beschickt und in einen auf 20—22° C eingestellten Vegetationsschrank gegeben. Die verschieden konzentrierten Sublimatlösungen waren durch entsprechendes Verdünnen von Sublimatstammlösungen hergestellt. Nach bestimmten Zeiten (¼ Stunde bis 15 Tagen) wurde der Gehalt der Flotte an Quecksilber und in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle auch an Chlor in filtrierten Partien derselben festgestellt.

Das Quecksilber wurde stets gewichtsanalytisch als Sulfid bestimmt. Zu seiner Bestimmung in der Sublimatstammlösung und in der Flotte wurden je 10 ccm mit Wasser verdünnt, etwas Salzsäure zugesetzt, die Lösung zum Sieden erhitzt und Schwefelwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet. Nach 12-stündigem Stehen wurde der schwarze Niederschlag auf einem getrockneten und gewogenen Glaswollefilter gesammelt, mit Wasser gewaschen und das Filter bei 100° C getrocknet. Um beigemengten Schwefel zu entfernen, wurde dann nach dem Abkühlen der Niederschlag mit einigen ccm Schwefelkohlenstoff gewaschen, der Schwefelkohlenstoff durch Äther verdrängt und das Filter nochmals bei 100 ° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Eine Reduktionsrechnung auf den leeren Raum war bei den Wägungen des Quecksilbersulfidniederschlages wegen der geringen Differenz zwischen seinem spezifischen Gewicht und dem der Messinggewichte nicht erforderlich. Das gewogene Quecksilbersulfid wurde auf Sublimat umgerechnet.

Die Bestimmung des Chlors in der Flotte erfolgte nach der Methode von Volhard, nachdem das Quecksilber entfernt und die eventuell vorhandenen organischen Substanzen zerstört waren. 10 ccm der Flotte wurden verdünnt, mit Salpetersäure schwach angesäuert, erwärmt und in die Lösung Schwefelwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet. Hiedurch wurde nach der Formel $HgCl_2 + SH_2 = HgS + 2\,HCl$ alles Quecksilber als unlösliches Sulfid ausgeschieden und das im Sublimat vorhandene Chlor in Salzsäure übergeführt. Nach 12-stündigem Stehen wurde vom ausgeschiedenen Quecksilbersulfid abfiltriert, der

Niederschlag mit Wasser gewaschen, das Filtrat mit salpetersaurem und kohlensaurem Natron versetzt und am Wasserbade in einer Nickelschale eingedampft. Falls die vor dem Eindampfen auf ihre Reaktion geprüfte Flüssigkeit freie Säure enthielt, wurde noch solange kohlensaures Natron zugesetzt, bis die Flüssigkeit deutlich alkalisch reagierte. Nach dem Verdampfen der Hauptmenge des Wassers wurde die Nickelschale in einen Trockenschrank gestellt und der Rückstand nach vollständigem Trocknen bei gelinder Wärme geschmolzen, wobei das Na_2S, das sich aus dem überschüssigen SH_2 und dem Na_2CO_3 gebildet hatte, zu Na_2SO_4 oxydiert und eventuell vorhandene organische Substanz zerstört wurde. Die erkaltete Schmelze wurde dann durch Erwärmen in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert und das Chlor in der Lösung nach Volhard titriert.

Zur Berechnung aller Analysen wurden die internationalen Atomgewichte des Jahres 1919 genommen.

Das Gewicht der eingewogenen Koagulumstückchen wurde, wie früher beschrieben, auf den leeren Raum reduziert. 10 ccm Sublimatstammlösung enthielten mg $HgCl_2$

bei Versuchsreihe Nr. I	197,5
» » » II u. III . . .	594,8
» » » IV, V, Va, VI .	599,2
» » » VII	655,8
» » » VIII	696,6

Eine Durchsicht der Analysenresultate ließ erkennen, daß bei der Berührung von Rinderserumkoagulum und Sublimatlösungen sowohl Quecksilber wie Chlor aus der Flotte verschwunden waren[1]).

Rechnete man nun die den gefundenen Quecksilbersulfidmengen nach der Formel des Sublimates äquivalenten Chlormengen aus und verglich sie mit den analytisch gefundenen, so ergab sich eine leidlich gute Übereinstimmung dieser Werte, was offenbar nur die eine plausible Deutung zuließ, daß nämlich Quecksilber- und Chloratome in Form von Sublimatmolekülen verschwunden waren.

Die Größe der Abweichung zeigte gruppenweise für Lösungen mit verschiedenem Sublimatgehalt gemittelt keinen Gang, wie die folgende kleine Zusammenstellung zeigt:

Sublimatgehalt in 10 ccm Flotte: g	Mittel der Abweichungen	Anzahl der Versuche
0,01—0,04	0,00068	3
0,04—0,07	0,00088	6
0,07—0,10	0,00098	7
0,10—0,20	0,00102	14
0,20—0,30	0,00095	11
0,30—0,50	0,00102	8
über 0,50	0,00079	4

Nach diesem Verhalten mußte die Ursache der Abweichung eine solche sein, die unabhängig vom Sublimatgehalt der Flotte einen annähernd gleich großen absoluten Wert dieser Abweichung bedingte. Es kamen hierfür in der Hauptsache bei der Chlorbestimmung einerseits Fehler beim Abmessen der zugesetzten n/10 Silbernitratlösung und beim Zurücktitrieren mit der n/10 Rhodanlösung, anderseits der Übergang von Serum-Kochsalz und von Chloriden früher wasserunlöslicher Kationen (was später erklärt werden wird) aus dem Koagulum in die Flotte, bei der Quecksilberbestimmung ihrem absoluten Werte nach gleich große Verluste beim Filtrieren in Betracht.

Über das Schicksal des verschwundenen Sublimates sagten diese Versuche nichts aus. Doch schien die Annahme, daß das verschwundene

1) Eine Veröffentlichung der Analysenresultate dieser sowie der späteren Versuche mußte wegen der Papiernot unterlassen werden. Sie wird eventuell später nachgeholt.

Sublimat zu dem Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getreten war, wohl von vornherein als gegeben. Allerdings könnte eventuell der Einwand gegen diese Deutung der Versuche erhoben werden, daß nämlich das Verschwinden des Sublimates dadurch bedingt sei, daß das Sublimat durch irgendwelche reduzierende Prozesse als unlösliches Kalomel ausgeschieden sein könnte. Eine solche Reduktion wäre immerhin bei der Anwesenheit von Eiweißkörpern denkbar gewesen. Auch in einem solchen Falle müßte natürlich der Quecksilbergehalt der Endflotte gegenüber dem der Ausgangsflotte verringert sein, da ja die Quecksilberbestimmung in der filtrierten Flotte ausgeführt wurde. Allerdings hätte sich auch in diesem Falle eine stärkere und mit zunehmendem Sublimatgehalt der Flotte ansteigende Differenz zwischen der analytisch gefundenen und der aus den Quecksilbersulfidwerten unter obiger Annahme berechneten Chlormengen ergeben müssen, da ja beim Übergang von Sublimat in Kalomel die Hälfte des Chlors des zu Kalomel reduzierten Sublimates als Salzsäure in der filtrierten Flotte zurückgeblieben wäre.

Um diesen Einwand vollends zu entkräftigen und die Annahme, daß das verschwundene Sublimat zu dem Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getreten war, durch Versuche zu stützen, wurde in zwei Einzelversuchen das eingewogene Koagulumstück nach 15-tägigem Verweilen in der Sublimatlösung aus dieser herausgenommen, gewogen, mit Salzsäure und chlorsaurem Kalium zerstört und dessen Quecksilbergehalt bestimmt. Diese Versuche sind in Tabelle 2 dargestellt. Durch diese zwei Versuche sollte auch unter einem die Stichhältigkeit der gemachten Annahme bewiesen werden, daß die das Koagulum durchtränkende Flüssigkeit dieselbe Zusammensetzung habe wie die Flotte, was in Analogie zum Verhalten von Kochsalz- und Phenollösungen zu Eiweißkoagula (Reichel[42]) ebenfalls als gegeben erschien.

Das Gewicht der Flotte, die in den zur Ermittlung ihres Quecksilbergehaltes verwendeten Koagulumstückchen imbibiert war und an ihnen anhaftete, ergab sich aus der Differenz des Gewichtes dieser Koagulumstückchen und ihres Gehaltes an Trockenkoagulum (Stab 6). Ersterer wurde durch Wägung festgestellt, letzteres war bei der Versuchsreihe I der hundertste Teil des Produktes des Gewichtes des Ausgangskoagulums (das durch Wägung ermittelt war) und seines relativen Trockenkoagulumgewichtes (Tabelle 1), bei Versuchsreihe X das Gewicht des Ausgangskoagulums selbst. Das Volumen der imbibierten und anhaftenden Flotte (Stab 7) wurde nach bekannten Beziehungen durch Division ihres Gewichtes durch das spezifische Gewicht der Flotte berechnet, welch letzteres, da die Flotte praktisch als reine Sublimatlösung aufzufassen war, aus dem bekannten Sublimatgehalt der Endflotte mit Hilfe einer durch Umrechnung und Interpolation aus der Schröderschen Tabelle über die Volumgewichte von Lösungen von Quecksilberchlorid bei 20° C erhalten wurde. Diese Umrechnung der obgenannten Tabelle mußte deshalb erfolgen, weil in ihr sich die Konzentrationsangaben auf g/g beziehen, während für den vorliegenden Zweck die Angaben in g/ccm erforderlich waren[1]). Die Schröderschen Werte und die umgerechneten Konzentrationsangaben sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

---

1) Ist s das spezifische Gewicht der Sublimatlösung, K die diesem spezifischen Gewicht entsprechende Konzentration der Sublimatlösung in g/g und v das dieser Konzentration entsprechende spezifische Volumen, so ist die s entsprechende Konzentration der Sublimatlösung in g/ccm $\frac{K}{v}$ und da $v = 1/s$ ist auch Ks.

Tabelle 1. **Versuche mit feuchtem Rinderserumcoagulum.**
Spezifisches Gewicht und Zusammensetzung der verwendeten Rinderserumcoagula.

			Symbol	Versuchsreihe I	II	III	IV	V u. Va	VI	VII	VIII	IX
Temperatur, bei der die Wägungen ausgeführt wurden				13° C	16° C	18° C	17° C	22° C	24° C	13° C	12° C	13° C
bestimmt	Spezifisches Gewicht des feuchten Koagulums		s_c	1,046	1,026	1,028	1,030	1,033	1,032	1,035	1,030	1,023
bestimmt	Relatives Gewicht in g/g	Trockenkoagulum	m_{tc}	18,135	10,130	10,306	11,221	12,671	12,511	13,807	11,164	8,557
		Wasser	m_{H_2O}	81,865	89,870	89,694	88,779	87,329	87,489	86,193	88,836	91,443
		Eiweiß	m_e	17,926	9,943	10,172	11,031	12,497	12,361	13,627	11,004	8,401
		Asche	m_a	0,209	0,187	0,134	0,190	0,174	0,150	0,180	0,160	0,156
		Kochsalz	m_{NaCl}	0,057	0,024	0,025	0,050	0,021	0,018	0,020	0,018	0,024
		Wasserunlösliche Asche	m_{ula}	0,152	0,163	0,109	0,140	0,153	0,132	0,160	0,142	0,132
berechnet	Spezifisches Gewicht des Trockenkoagulums		s_{tc}	1,319	1,322	1,353	1,348	1,337	1,330	1,323	1,352	1,354
berechnet	Relatives Volumen in ccm/g	Feuchtes Koagulum	v_c	95,60	97,48	97,28	97,10	96,81	96,90	96,63	97,10	97,75
		Wässerige Kochsalzlösung	$v_{H_2O+NaCl}$	81,89	89,87	89,71	88,80	87,34	87,50	86,21	88,84	91,44
		Eiweiß	v_e	13,656	7,352	7,531	8,250	9,415	9,353	10,363	8,209	5,863
		Kochsalz	v_{NaCl}	0,028	0,011	0,021	0,024	0,010	0,008	0,009	0,009	0,011
		Wasserunlösliche Asche	v_{ula}	0,054	0,058	0,039	0,050	0,055	0,047	0,057	0,051	0,047

Tabelle 2. **Versuche mit feuchtem und getrocknetem Rinderserumkoagulum.**
Quecksilbergehalt von Koagulumstückchen, die 15 Tage in verschieden konzentrierten Sublimatlösungen lagen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		Gewicht des			Im Koagulum imbibierte und an ihm anhaftende Flotte			Quecksilbergehalt des			
Versuchsreihe	Versuch Nr.	Ausgangskoagulums	analysiert. Koagulums	aus dem analysierten Koagulum ausgefällten HgS	Gewicht	Volumen	Quecksilbergehalt	analysierten Koagulums	Eiweißes des analysierten Koagulums	Aus der Flotte verschwundene Quecksilbermenge (Tabelle Nr. 3)	Perzentuelle Abweichung zwischen der im Eiweiß des Koagulums gefundenen u. der aus der Flotte verschwund. Quecksilbermenge
		g	g	g	g	ccm	g	g	g	g	g
I	1	7,2921	7,7760	0,5440	6,454	6,391	0,06262	0,4690	0,40638	0,4118	1,32
X	1	1,1733	3,4670	0,6480	2,294	2,261	0,04161	0,5587	0,51709	0,5259	1,68

Durch Interpolation und Umrechnung aus den Schröderschen Angaben berechnete Tabelle der spezifischen Gewichte von Sublimatlösungen bei 20° C bezogen auf Wasser von 4° C.:

Spezifisches Gewicht	% $HgCl_2$ g/g	% $HgCl_2$ g/ccm
0,99823	0,0000	0,0000
1,0060		0,8754
1,0072	1,0000	1,0072
1,0092		1,2720
1,0096		1,3260
1,0148	2,0000	2,0296
1,0186		2,4895
1,0236	3,0000	3,0708
1,0323	4,0000	4,1292
1,0411	5,0000	5,2055

Der Quecksilbergehalt der im Koagulumstückchen imbibierten und der an ihm anhaftenden Flotte (Stab 8) wurde als der hunderste Teil des Produktes des Volumens dieser Flüssigkeit und des perzentuellen Quecksilbergehaltes der Endflotte angenommen. Letzterer ergab sich aus dem perzentuellen Sublimatgehalt der Endflotte. Der Quecksilbergehalt des analysierten Koagulums (Stab 9) ergab sich aus der gefundenen Quecksilbersulfidmenge. Der Quecksilbergehalt des Eiweißes des analysierten Koagulums (Stab 10) wurde durch Subtraktion des angenommenen Quecksilbergehaltes der imbibierten und anhaftenden Flotte vom Quecksilbergehalte des analysierten Koagulums erhalten. Die aus der Flotte verschwundene Quecksilbermenge wurde aus der aus der Flotte verschwundenen Sublimatmenge berechnet (Stab 11). Bei der Versuchsreihe X kam Trockenkoagulum zur Anwendung. Dasselbe bestand aus 98,85% Eiweiß. Der Sublimatgehalt der Endflotte betrug 2,491%, die verschwundene Sublimatmenge 0,7149 g. Die erforderlichen Daten für Versuch I sind aus Tabelle 3 zu entnehmen.

Die in den zwei vorliegenden Versuchen im Eiweiß des Koagulums gefundenen Quecksilbermengen zeigten eine gute Übereinstimmung mit jenen Quecksilbermengen, die aus der Flotte verschwunden waren. Die perzentuelle Abweichung zwischen beiden Werten (1,32% bzw. 1,68%) ist wohl in Anbetracht der schon früher erwähnten vielen Fehlerquellen bei den Wägungen des Ausgangsmaterials als gering und durch unvermeidliche Beobachtungsfehler als hinreichend erklärt zu betrachten. Würde auch nur ein Teil der aus der Flotte verschwundenen Sublimatmenge zu Kalomel reduziert worden sein, so hätte die perzentuelle Abweichung einen weitaus größeren Wert ergeben müssen.

Das Resultat der beiden Versuche zeigte also, daß tatsächlich das aus der Flotte verschwundene Sublimat zum Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getreten war. Es ist ferner auch ein Beleg für die Richtigkeit der Annahme, daß die Zusammensetzung der das Koagulum durchtränkenden Flüssigkeit auch im vorliegenden Falle mit ausreichender Annäherung als identisch der Zusammensetzung der Flotte anzusehen sei, da ja diese Annahme der Berechnung der Versuche zugrunde gelegt war und daher für den Fall ihres Nichtzutreffens sich keine so gute Übereinstimmung der gefundenen und verschwundenen Quecksilbermenge hätte ergeben können. (Siehe Tabelle 2.)

Welche Art von Beziehung zwischen Eiweiß und Sublimat nun anzunehmen war, ist nach dem Resultat der bisherigen Versuche noch unentschieden. Es konnte sich entweder um eine Adsorption des Sublimates

an die Oberfläche des Eiweißes oder um eine Verteilung zwischen Eiweiß und Wasser nach konstantem Faktor (Henrysche Verteilung) oder schließlich um eine chemische Bindung zwischen Sublimatmolekülen oder den einzelnen Atomen, aus denen das Sublimatmolekül besteht, einerseits und den Eiweißmolekülen des Koagulum anderseits handeln. Auch an eine Kombination zweier oder mehrerer der genannten Möglichkeiten war zu denken.

Zunächst war zur Klärung dieser Frage zu berechnen, wie sich die verschwundene Sublimatmenge zu der im jeweiligen Versuch gegenwärtigen Eiweißmenge verhalten hatte (Tabelle 3, Stab 9). Hiebei zeigte sich, daß die verschwundene Sublimatmenge in keinem konstanten Verhältnisse zum Eiweiß stand, und daß die pro Gramm Eiweiß verschwundene Menge einen Gang mit der Konzentration der Endflotte zeigte, und zwar in dem Sinne, daß den höheren Flottenkonzentrationen absolut größere, aber relativ geringere Sublimatverluste pro Gramm Eiweiß entsprachen. Derartige Beziehungen gelten in der Literatur vielfach als Beweis für Adsorptionsvorgänge. Tatsächlich handelt es sich auch bei der Adsorption um eine Erscheinung, die durch eine paraboloide gegen die Achse der Flottenkonzentration konkav gekrümmte Kurve beschrieben wird. Der Beweis, daß Adsorption vorliegt, erfordert aber noch den Ausschluß chemischer Bindung und von Lösungsbeziehungen und den Nachweis voller Reversibilität. In vielen Fällen begnügen sich aber die Autoren bloß mit der Feststellung, daß die gewonnenen Resultate der durch Freundlich aufgestellten Adsorptionsgleichung entsprechen, um einen Vorgang als Adsorption zu erklären.

Schon Procter[43]) und nach ihm wieder Gegenbauer und Reichel[44]) haben darauf hingewiesen, daß die Summation von chemischen Bindungswerten und Verteilungsgleichgewichtszahlen zu scheinbaren Adsorptionskurven führen kann, wie es z. B. bei Salzsäure und Eiweiß tatsächlich der Fall ist. Zur Klärung der Frage der chemischen Bindung wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

In der Mehrzahl der Versuche wurden die Koagulumstückchen, nachdem sie die bestimmten Zeiten mit den verschieden konzentrierten Sublimatlösungen in Berührung waren, aus diesen herausgenommen und solange in fließendem Hochquellenwasser gewaschen, bis sich in 50 ccm Wasser, das 12 Stunden mit ihnen in Berührung war, kein Quecksilber nachweisen ließ. War dieser Zustand erreicht — was durchschnittlich nach 8- bis 10-tägigem Waschen eintrat — so wurden die Stücke aus dem Wasser genommen, von dem oberflächlich anhaftenden Wasser durch leichtes Abtupfen mit Filtrierpapier befreit und in zwei zuweilen drei Partien geteilt, deren Gewicht durch Wägung bestimmt wurde. In der ersten Partie wurde der Wasser-, in der zweiten der Quecksilber-, in der eventuellen dritten der Chlorgehalt bestimmt. Durch diese Versuche sollte festgestellt werden, ob das Sublimat als solches oder jedes seiner Atome für sich oder schließlich eventuell nur eines der beiden Atome des Sublimates mit dem Eiweiß des Koagulums eine chemische Bindung eingegangen war. War doch zu erwarten, daß im allgemeinen chemische Bindungen durch das Waschen

nicht zu trennen seien, ad- und absorbierte Sublimatmengen aber bei genügend langem Auswaschen sich eben entfernen lassen würden.

Bei diesen Versuchen wurde zur Bestimmung des Reduktionsfaktors für das Gewicht des gewaschenen Koagulums dessen spezifisches Gewicht auf folgende Weise annähernd berechnet. Zunächst wurde mit dem abgekürzten Reduktionsfaktor $K = 1{,}00$ der bei der Wägung erhaltene Wert für das gewaschene Koagulum reduziert. Mit Hilfe dieses reduzierten Wertes wurde der Wassergehalt in erster Annäherung berechnet. Dann wurde durch Interpolation der in Tabelle 1 enthaltenen Werte des spezifischen Gewichtes des feuchten Koagulums für den höchsten und niedersten Wassergehalt (Versuchsreihe I und IX) der Wert für das spezifische Gewicht des gewaschenen Koagulums, der dem bei der ersten Berechnung ermittelten Wassergehalt entsprach, berechnet und der dazu gehörige Reduktionsfaktor aufgesucht. Mit ihm wurde dann die endgültige Rechnung durchgeführt. Die Differenz zwischen der ersten und zweiten Berechnung war sehr gering, betrug meist nur einige Zehntelmilligramme. Diese Art der Berechnung erschien für den vorliegenden Fall als hinreichend genau, obwohl sie mehrere Korrekturen unberücksichtigt ließ, wie den Einfluß der Temperatur und das Fehlen von Asche im gewaschenen Koagulum. Asche wurde nämlich im gewaschenen Koagulum nur in unwägbaren Spuren gefunden. Zur Reduktion des Gewichtes des Trockenkoagulums wurde, wie bereits erwähnt der Faktor $K = 0{,}75$ genommen.

Zur Bestimmung des Quecksilbers in den gewaschenen Koagulumstückchen wurden gewogene Partien derselben in einem mit einem Uhrglas bedeckten Erlenmayer-Kolben mit konzentrierter Salzsäure übergossen und ca. 6 Stunden am Wasserbade erhitzt. Nach dieser Zeit wurde der Kolben vom Wasserbade genommen, etwas abkühlen gelassen und chlorsaures Kalium zugesetzt und wieder am Wasserbade weiter erhitzt. Wurde die Flüssigkeit braun, so setzte man neuerdings chlorsaures Kalium zu und wiederholte diese Zugabe eventuell noch ein drittes- und viertesmal usw., bis die Flüssigkeit nach längerem Verweilen auf dem Wasserbade sich nicht mehr braun färbte. Dann setzte man das Erwärmen fort, bis der Geruch nach Chlor verschwunden war, ließ hernach abkühlen und filtrierte die Flüssigkeit durch ein Faltenfilter und wusch dieses mit Wasser aus. In das Filtrat wurde Schwefelwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet und der entstandene Niederschlag nach 12-stündigem Stehen abfiltriert, das Filter samt Niederschlag in einem kleinen mit einem Uhrglas bedeckten Becherglas mit Salzsäure und chlorsaurem Kalium versetzt und am Wasserbade solange erwärmt, bis sich alles Quecksilbersulfid gelöst hatte, das Filter in seine Fasern zerfallen und der Chlorgeruch verschwunden war. Nach dem Erkalten wurde die klare Flüssigkeit von den Papierfasern und dem ausgeschiedenen Schwefel, der von der Reduktion des Schwefelwasserstoffes durch gechlorte organische Verbindungen herrührte, abfiltriert, der Rückstand am Filter mit Wasser gewaschen und in das Filtrat Schwefelwasserstoffgas bis zur Sättigung eingeleitet und das ausgefällte Quecksilbersulfid, wie früher beschrieben, auf einem Glaswollefilter gesammelt, gewogen und auf Quecksilber umgerechnet.

Die Bestimmung des Chlors im gewaschenen Koagulum erfolgte nach derselben Methode wie beim feuchten Ausgangskoagulum.

Das gewaschene Koagulum war als praktisch aschefrei anzusehen, da sich niemals wägbare Mengen von Asche bei der Analyse ergaben. Daher entsprach das Eiweißgewicht dem Trockenkoagulumgewicht. Worauf das Verschwinden der wasserunlöslichen Salze beruhen dürfte, wird später auszuführen sein. Aus dem relativen Eiweißgewicht in g/g, der sich aus der Bestimmung des Trockenkoagulumgewichtes ergab, wurde das Eiweißgewicht der Koagulumpartie, in der die Quecksilberbestimmung ausgeführt wurde, nach bekannten Beziehungen berechnet.

Der relative Sublimatgehalt der Endflotte in g/ccm wurde aus der Quecksilbersulfidmenge, die in 10 ccm der Endflotte gefunden wurde, berechnet.

Den Quecksilber- und Chlorgehalt von 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums erhielt man durch Division der gefundenen Quecksilber- und Chlormengen durch das Eiweißgewicht des gewaschenen Koagulums, in dem sie gefunden wurde.

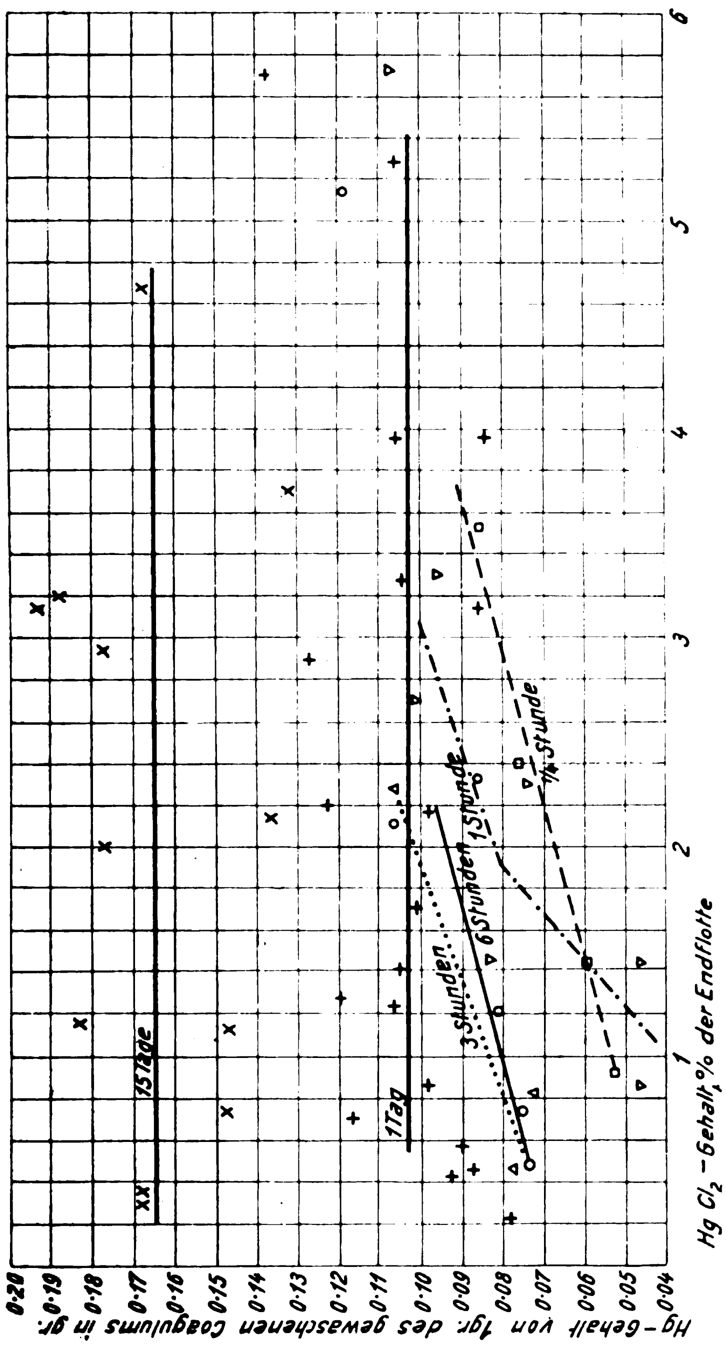


Fig. 1. Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.

□ Gefundene Werte bei 1/4 Stunde Berührungszeit
▽ " " " 1 " "
△ " " " 3 Stunden "
○ " " " 6 " "
+ " " " 1 Tag "
× " " " 15 Tagen "

In den gewaschenen Koagulumstückchen wurde nun sowohl Quecksilber wie Chlor gefunden.

Verglich man aber bei den Versuchen, in denen sowohl Quecksilber- wie Chlorbestimmungen ausgeführt wurden, die dem gefundenen Quecksilber nach der Formel des Sublimates äquivalente Chlormenge mit der gefundenen Chlormenge, so zeigt sich, daß letztere nur einen Bruchteil der ersteren ausmachte. Die gefundenen Chlormengen betrugen nämlich nur 0,54—29,55%[1]) der dem gefundenen Quecksilber äquivalenten, wenn letzteres als zweiwertig angenommen wurde. Das Resultat dieser Berechnung bewies, daß im gewaschenen Koagulum das Vorhandensein von Sublimat nicht anzunehmen war. Aber auch an eine Bindung zwischen Quecksilber und Chlor in der Form von HgCl war nicht zu denken, da in einem solchen Falle die einem einwertigen Quecksilber äquivalente Chlormenge hätte zugegen sein müssen. Die gefundene Chlormenge betrug aber nur 1,08—59,10% der einem einwertigen Quecksilber äquivalenten. Die großen Differenzen, die die perzentuellen Verhältnisse zwischen den gefundenen Chlormengen und der dem gefundenen Quecksilberwerte äquivalenten Chlormenge der einzelnen Versuche untereinander aufwiesen, schloß eigentlich a priori schon die Annahme aus, daß das nach dem Waschen im Koagulum noch vorhandene Chlor sich in Form einer chemischen Bindung mit dem vorhandenen Quecksilber befinde.

Um nun die Frage zu entscheiden, in welcher Form Quecksilber und Chlor im gewaschenen Koagulum vorhanden waren, wurde zunächst die auf ein Gramm Eiweiß des gewaschenen Koagulums entfallende Quecksilbermenge berechnet. Dabei ergab sich, daß diese Werte in den Versuchen mit eintägiger Berührungsdauer von Sublimat und Koagulum annähernd die gleiche Größe hatten und sich unabhängig von der Konzentration der Endflotte um den arithmetischen Mittelwert aller Einzelversuche der betreffenden Berührungszeit gruppierten. Dies traf auch für die 15-tägige Berührungsdauer zu, nur lagen hier alle Werte höher, als nach 1-tägiger Berührungsdauer (Tabelle 3, Stab 8, Fig. 1).

Dieses Ergebnis der Versuche läßt wohl nur die eine Deutung zu, daß nämlich das im gewaschenen Koagulum vorhandene Quecksilber eine chemische Verbindung mit dem Eiweiß des Koagulums, etwa in der Form von Protein-Quecksilber, eingegangen war, deren Bindungsgröße mit der Dauer der Berührung zunahm. Dieses Quecksilber mußte natürlich aus den in das Eiweiß des Koagulums übergegangenen Sublimatmolekülen stammen.

Der mittlere Wert des Quecksilbergehaltes der im gewaschenen Koagulum vorhandenen Protein-Quecksilberverbindung beträgt nach 1-tägiger Berührung von Koagulum und Sublimatlösung:

$$10{,}387 \pm 1{,}603\% \text{ (Var.-Koeff.} = 15{,}44\%);$$

nach 15-tägiger Berührung von Koagulum und Sublimatlösung:

$$16{,}535 \pm 2{,}013\% \text{ (Var.-Koeff.} = 12{,}18\%).$$

1) In den einzelnen Versuchen lauteten diese Verhältniszahlen: bei 1-stündiger Berührungsdauer 29,55%, 14,35%; bei 6-stündiger Berührungsdauer 22,56%, 27,80%, 24,65%; bei 1-tägiger Berührungsdauer 11,17%, 7,64%, 0,54%, 5,45%, 14,96%; bei 15-tägiger Berührungsdauer 15,30%, 19,45%, 4,93%, 16,98%.

Der mittlere Fehler der Einzelmessung ergab nach diesen beiden Berührungszeiten $\pm$ 1,603 bzw. $\pm$ 2,013, somit annähernd die gleichen Werte, woraus sich schließen läßt, daß die Unsicherheit der Beobachtung in beiden Fällen gleich groß und offenbar durch die angewandte Methodik bedingt war. Der mittlere Fehler des Mittelwertes betrug $\pm$ 0,368 bzw. $\pm$ 0,581.

Nach einer Berührungsdauer von nur ¼ und 1 Stunde zeigte sich hingegen eine Abhängigkeit der auf 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums entfallenden Quecksilbermenge von der Konzentration der Endflotte. Hier entfielen bei höheren Konzentrationen der Endflotte mehr Quecksilber auf 1 g Eiweiß als bei niederen. Auch nach sechsstündiger Berührungszeit war noch ein gewisser Zusammenhang von Quecksilbermenge und Konzentration zu erkennen, jedoch war diese keineswegs mehr so ausgesprochen wie bei den ganz kurzfristigen Versuchen. Die Versuche nach dreistündiger Berührungszeit waren zu wenig zahlreich, um verwertet werden zu können. In all diesen Fällen war infolge der Kürze der Berührungszeit das Gleichgewicht noch nicht erreicht, wie aus der noch später durchzuführenden Berechnung des Gewichtsverteilungsfaktors Eiweiß-Wasser hervorgeht.

Damit ist für einen Teil des aus der Flotte verschwundenen Quecksilbers eine durch Waschen nicht reversible chemische Bindung an das Eiweiß erwiesen. Welche Art von Beziehung für den anderen Teil des Quecksilbers dieser Sublimatmoleküle anzunehmen ist, wird später erörtert werden, ebenso die Frage, durch welche Momente die Zunahme der Bindungsgröße der Protein-Quecksilberverbindung mit der Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung bedingt sein dürfte. Zunächst soll das Schicksal des Chlors jener chemisch gebundenen Sublimatmenge verfolgt werden.

Die nächstliegende Vorstellung war nun, daß beim Entstehen der Verbindung Protein-Quecksilber Wasserstoffatome des Eiweißes gegen Quecksilberatome des Sublimates ausgetauscht wurden, so daß freie Salzsäure entsteht, die dann ihrerseits mit dem Eiweiß des Koagulums eine Eiweiß-Salzsäureverbindung bildet. Eiweiß besitzt wie in einer früheren Arbeit mit Reichel[44]) durch Literaturkritik und eigene Versuche dargetan wurde, ein Bindungsvermögen für Salzsäure nach konstanten Proportionen, das nach den in der Literatur vorhandenen Angaben für genuine Eiweißkörper rund 4—5% ihres Gehaltes beträgt. Die wichtigsten älteren Arbeiten sind von Sjöqvist, Cohnheim, Bugarski und Liebermann und v. Rhorer[45–48]).

Obwohl nun schon darnach die Größe der Säurebindung durch das Eiweiß des koagulierten Rinderserums zu beurteilen gewesen wäre, so wurde doch eine Versuchsreihe mit diesem angestellt, teils um die Gültigkeit der Bindungsgesetze auch für hitzekoaguliertes Eiweiß, für welches nur einige unvollkommene Versuche Sjöqvists vorliegen, ausdrücklich darzutun, teils zur genaueren Ermittlung des im vorliegenden Falle anzunehmenden, in der Literatur für Hitzekoagula nur wenig berücksichtigten Einflusses der Zeit auf diese Werte, endlich um das Verhalten der Eiweiß-Salzsäureverbindung lange fortgesetztem Waschen gegenüber festzustellen.

Es wurden gewogene Partien feuchten Rinderserumkoagulums mit je 100 ccm verschieden konzentrierter Salzsäurelösungen übergossen und nach 1- bzw. 15-tägiger Berührung der Salzsäuregehalt der Flotte durch

Titration gegen Phenolphthalein bestimmt, die Koagulumstückchen selbst durch 8 Tage in fließendem Wasser gewaschen und sodann deren Chlorgehalt nach der bereits schon früher beschriebenen Methode ermittelt. Die beschickten Kölbchen wurden, wie bei den früheren Versuchen, in einen Vegetationsschrank gestellt. Die Kautelen beim Einwägen und bei den analytischen Methoden waren dieselben, wie bei den früheren Versuchen.

Gewicht des Eiweißes und Volumen der wässerigen Kochsalzlösung des Ausgangskoagulums ergaben sich unter Berücksichtigung der in Tabelle 1 angegebenen Werte nach bekannten Beziehungen. Die aus der Flotte verschwundene Säure wurde als Differenz des Salzsäuregehaltes der wässerigen Ausgangs- und Endflotte berechnet. Ersterer ergab sich aus der Anzahl der zugesetzten ccm Salzsäurestammlösung, letzterer aus der Titration der Endflotte als Produkt der in 10 ccm Endflotte gefundenen Salzsäuremenge und des zehnten Teiles des Flottenvolumens. Als diese wurde die Summe der Volumina des zum Versuche genommenen Wassers, der Salzsäurestammlösung und der im eingewogenen Koagulum enthaltenen Salzsäure angenommen. Diese Art der Berechnung setzt voraus, daß die gesamte vorhandene Flüssigkeit dieselbe Zusammensetzung habe. Das Zutreffen dieser Voraussetzung schien in Analogie zum Verhalten anderer wässeriger Lösungen (Kochsalz-, Phenol- und Sublimatlösungen) gegenüber Eiweißkoagula als gegeben und wurde außerdem durch Gegenbauer und Reichel[44]) für das Verhalten von Salzsäurelösungen zu Fellsubstanzen bewiesen. Die aus der Flotte verschwundene Salzsäuremenge wurde gemäß der oben entwickelten bzw. ausführlich begründeten Vorstellungen als an das Eiweiß des Koagulums fix gebunden betrachtet. Durch Division dieser Menge durch das Eiweißgewicht des Koagulums erhielt man die von 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums gebundene Salzsäuremenge.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigte die in 1 g Eiweiß des Koagulums übergegangene Salzsäuremenge unabhängig von der Konzentration der Flotte als einen sehr konstanten Wert. Es war daher also auch für das hitzekoagulierte Eiweiß ein Säurebindungsvermögen nach konstanten Proportionen anzunehmen. Die Bindungsgröße stimmte mit den in der Literatur vorhandenen Angaben über die Salzsäurebindung durch genuine Eiweißkörper gut überein.

Das Resultat dieser Versuche ist in der folgenden kleinen Tabelle dargestellt:

Dauer der Berührung v. Koagulum u. Salzsäurelösung in Tagen	Salzsäuregehalt der Endflotte % g/ccm	Gebundene Salzsäure pro 1 gr des Ausgangskoagulums g	Auf 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums entfallende Chlormenge g
1	3,148	0,04162	0,0024
	2,342	0,04511	0,0042
	1,488	0,04671	0,0018
	0,688	0,04320	0,0028
15	3,160	0,05528	0,0009
	2,425	0,05099	0,0031
	1,604	0,05007	0,0020
	0,753	0,05027	0,0045

Sie betrug daher im Mittel von je vier Versuchen für 100 g hitzekoaguliertes Eiweiß

bei 1-tägiger Berührung von Salzsäure und Koagulum

4,416 ± 0,222 g HCl (Variationskoeffizient = 5%);

bei 15-tägiger Berührung von Salzsäure und Koagulum

5,165 ± 0,248 g HCl (Variationskoeffizient = 4,8%).

Der mittlere Fehler der Einzelversuche ergab nach diesen beiden Berührungszeiten ± 0,222 bzw. ± 0,248, war also hier ebenfalls annähernd gleich. Der mittlere Fehler der Mittelwerte betrug ± 0,111 bzw. ± 0,124.

Die Bindungsgröße nahm mit der Dauer der Einwirkung von Salzsäure zu, sie war nach 15-tägiger Einwirkung ungefähr um 15% höher als nach 1-tägiger. Ein gleiches Phänomen haben Gegenbauer und Reichel[44]) bezüglich des Salzsäurebindungsvermögens von Fellen beobachtet. Dort wurde nach 4-tägiger Berührung von Fell und Säure pro 1 g Fell 26—34 mg HCl, nach weiterer 5-tägiger Berührung 39—48 mg HCl gebunden. Die Ursache dieser Zunahme der Bindungsgröße dürfte, wie dort eingehend erörtert, darin zu suchen sein, daß das Eiweiß allmählich teilweise hydrolytisch aufgespalten wird, wodurch Abbauprodukte der Eiweißkörper entstehen, die ein größeres Säurebindungsvermögen haben als die genuinen Eiweißkörper, wie aus den Versuchen von Sjöqvist[45]) und Cohnheim[46]) hervorgeht.

Im gewaschenen Koagulum wurden ungefähr 5% der gebundenen Salzsäuremenge wiedergefunden. Es war also der überwiegende Teil der gebundenen Salzsäure ausgewaschen worden. Eine Spaltung der Eiweiß-Salzsäureverbindung durch Wasser ist nach den von Gegenbauer und Reichel[44]) schon früher mitgeteilten Versuchen über das Verhalten gesäuerter Fellsubstanzen in Wasser und nach den in der Literatur vorhandenen Angaben nicht anzunehmen. So muß also als einzige Erklärung dieses Phänomens angenommen werden, daß bei langdauerndem Waschen der überwiegende Teil der Eiweiß-Salzsäureverbindung bis zum Ende des Versuches in einen in Wasser löslichen, somit auswaschbaren Zustand gekommen, wahrscheinlich allmählich hydrolytisch aufgespalten worden war. An dieser Aufspaltung konnte sich, solange das Koagulum mit der Salzsäurelösung in Berührung war, die freie Salzsäure der Flotte beteiligen. Man muß sich aber, wie l. c.[44]) dargetan wurde, vorstellen, daß auch die gebundene Salzsäure die Fähigkeit habe, Eiweißkörper abzubauen, was durch Versuchsergebnisse von Koßler[49]) über die Verdauung von Säure-Eiweiß durch neutrale Pepsinlösung gestützt wird.

Diese Versuchsreihe hatte also nicht nur allein ergeben, daß das Eiweiß des verwendeten Rinderserumkoagulums ein Salzsäurebindungsvermögen nach konstanten Proportionen hat, das seiner Größe nach jenem für genuine Eiweißkörper entspricht und mit der Dauer der Einwirkung zunimmt, sondern sie hat auch gezeigt, daß die gebundene Salzsäure bei lange fortgesetztem Waschen aus dem Koagulum zum größten Teile ausgewaschen werden kann, offenbar deshalb, weil sich durch die allmähliche hydrolytische Aufspaltung des Eiweißes der Salzsäure-Eiweißverbindung in Wasser lösliche Verbindungen bilden.

Somit sprach der Umstand, daß bei den Sublimatversuchen im gewaschenen Koagulum die der gefundenen Quecksilbermenge nach der

Formel des Sublimates äquivalente Chlormenge nicht gefunden wurde, keineswegs gegen die Annahme, daß dieses Chlor in Form von Salzsäure mit dem Eiweiß des Koagulums eine Verbindung eingegangen war.

Berechnet man nun die dem an das Eiweiß des Koagulums gebundenen Quecksilber äquivalente Menge Salzsäure (Tabelle 3, Stab 8) und vergleicht sie mit dem mittleren Wert der vorigen Versuche, so ergibt sich folgende Zusammenstellung

Dauer der Berührung	Dem gebundenen Quecksilber nach der Formel des Sublimates äquivalente Salzsäuremenge Gramme HCl „in" 100 g Proteinquecksilberverbindung
1 Tag	3,777 ± 0,583 (Var.-Koeff. = 15,44%)
15 Tage	6,013 ± 0,732 (Var.-Koeff. = 12,18%)

Dauer der Berührung	Salzsäurebindung des Eiweißes des verwendeten Rinderserumkoagulums Gramme HCl „auf" 100 g Eiweiß
1 Tag	4,416 ± 0,222 (Var.-Koeff. = 5 %)
15 Tage	5.165 ± 0,248 (Var.-Koeff. = 4,8 %)

Die für den exakten Vergleich notwendigen Angaben der dem gebundenen Quecksilber äquivalenten Salzsäuremenge auf 100 g Eiweiß des Ausgangskoagulums an Stelle der Angabe in 100 g Protein-Quecksilberverbindung konnten im vorliegenden Falle aus äußeren Gründen nicht gemacht werden. Da nämlich, wie aus dem früher Dargelegten hervorgeht, die Berechnung der gebundenen Quecksilbermenge auf das Eiweiß des gewaschenen Koagulums erfolgte, hätte eine Umrechnung auf das Eiweiß des Ausgangskoagulums die Kenntnis der durch die hydrolytische Aufspaltung des Eiweißes abgebauten und somit ausgewaschenen Eiweißmenge zur Voraussetzung gehabt. Diese Menge war aber keineswegs genau bekannt und auch sicherlich nach dem Ergebnis der Chlorbestimmung der gewaschenen Koagula sehr variabel. Da aber die Eiweißmenge im gewaschenen Koagulum im Vergleich zum Ausgangskoagulum infolge der allmählichen hydrolytischen Aufspaltung durch die Salzsäure der Eiweiß-Salzsäureverbindung verringert wurde, dürfte eine Angabe »in Hundert« beim gewaschenen Koagulum einer solchen „auf Hundert" beim Ausgangskoagulum in erster Annäherung entsprechen, so daß es erlaubt erscheint, die Größe des Quecksilbergehaltes der Protein-Quecksilberverbindung als Maß für das Quecksilberbindungsvermögen des Eiweißes des Ausgangskoagulums zu nehmen, namentlich in Anbetracht des mehr orientierenden Charakters der ganzen vorliegenden Betrachtung und der zahlreichen Fehlerquellen der Bestimmungsmethoden.

Diese Zusammenstellung zeigt nun, daß tatsächlich die ganze freie Salzsäure, die sich bildet, wenn beim Entstehen der Proteinquecksilberverbindung Wasserstoffatome der Eiweißkörper gegen Quecksilberatome des Sublimates ausgetauscht werden, durch das Eiweiß des verwendeten Rinderserumkoagulums gebunden werden kann. Nach 1-tägiger Berührungszeit von Koagulum und Sublimatlösung ist der mittlere Wert der gebildeten Salzsäure kleiner, nach 15-tägiger Berührung allerdings größer als die gefundene Salzsäurebindung des Eiweißes, doch liegen auch im letzteren Falle die beiden Werte so nahe aneinander, daß man in Anbetracht der mannigfachen Fehlerquellen der Methodik, namentlich bei der Quecksilberbestimmung im gewaschenen Koagulum (Var.-Koeff. = 12,18%) auch hier von einer ziemlichen Übereinstimmung gesprochen werden kann. Außerdem dürfte sich ein Teil der entstandenen freien Salzsäure mit den Kationen der wasserunlöslichen Salze zu löslichen Chloriden verbinden, worauf das

Fehlen von Asche in den mit Sublimatlösung in Berührung gewesenen und nachher gewaschenen Koagulumstückchen beruhen dürfte.

Die Versuche über die Salzsäurebindung durch das Eiweiß des koagulierten Rinderserums und die gerade durchgeführte Berechnung sind eine wesentliche Stütze für die obige Auffassung hinsichtlich des Chlors. Die Vorstellung scheint begründet, daß ein Teil der zum Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getretenen (aus der Flotte verschwundenen) Sublimatmoleküle eine chemische Reaktion mit den Eiweißkörpern des Koagulums eingehen, die in zwei Phasen verläuft. Zunächst wird das Quecksilberatom des Sublimatmoleküles gegen zwei Wasserstoffatome der Eiweißkörper ausgetauscht, wobei Protein-Quecksilber und freie Salzsäure entsteht; dann verbindet sich die freie Salzsäure mit den Eiweißkörpern des Koagulums zu Protein-Salzsäure. Die gebundene Salzsäure spaltet hernach allmählich hydrolytisch das an sie gebundene Eiweiß auf, wobei abgebaute Eiweißkörper entstehen, die ein höheres Salzsäurebindungsvermögen haben, als die genuinen, und deren Verbindungen mit Salzsäure wasserlöslich sind, so daß sie bei langem Waschen solcher Koagula ausgewaschen werden. Dieser letztere Umstand erklärt dann die Tatsache, daß im lange gewaschenen Koagulum nur ein Teil der Chlormenge gefunden wurde, die dem gebundenen Quecksilber nach der Formel des Sublimates äquivalent ist.

Daß die Chlormenge, die dem chemisch gebundenen Quecksilber entspricht, im wesentlichen nicht in die Flotte übergeht, sondern im Koagulum bleibt, wurde bereits durch frühere Versuche gezeigt. Würde nämlich diese Chlormenge vollständig übergetreten sein, so müßte sich ein ungefähr viermal größerer Chlorüberschuß ergeben als durch die Analyse gefunden wurde. Es muß angenommen werden, daß die bei der Reaktion der Eiweiß- und Sublimatmoleküle entstehende Salzsäure sofort von den im Eiweißmolekül reichlich vorhandenen Amid- und Imidgruppen additiv gebunden wird.

Die Berechnung dieser Chlormenge wurde in allen Fällen durchgeführt, in denen der Quecksilbergehalt des der Einwirkung des Sublimates ausgesetzten Koagulums nach 8-tägigem Waschen desselben in fließendem Hochquellenwasser und der Chlorgehalt der Flotte bestimmt worden war. War a = Quecksilbergehalt von 1 g Protein-Quecksilberverbindung, b = Eiweißgewicht der eingewogenen Koagulummenge, c = Volumen der Flotte und d = Umrechnungsfaktor von Hg auf Cl_2, so ergab sich jene Chlormenge als $a \cdot b \cdot d$ und ihr auf 10 ccm der Flotte entfallender Anteil als

$$\frac{10 \cdot a \cdot b \cdot d}{c}$$

Die Frage, ob der Teil des Sublimates, der zum Eiweiß des Koagulums zwar in enge Beziehung getreten (aus der Flotte verschwunden), jedoch keine chemische Bindung mit dem Eiweiß des Coagulums eingegangen ist, adsorbiert war oder sich nach konstantem Faktor zwischen Eiweiß und Wasser verteilt hatte, konnte nun mehr durch Betrachtung der relativen Mengen und Konzentrationsverhältnisse gelöst werden (Tabelle 3).

Die auf 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums entfallende Menge des auswaschbaren Sublimates ist in Tabelle 3, Stab 10 u. 11 berechnet. Sie zeigt sich naturgemäß alles eher als konstant, was leicht erklärlich ist,

da die schon früher festgestellte Inkonstanz des gesamten verschwundenen Sublimates nach Abzug des konstanten gebundenen Anteiles noch mehr zum Vorschein kommen mußte. Das Verhältnis jener Menge zum Sublimatgehalt von 1 ccm Flotte (Tabelle 3, Stab 12 u. 13) — der Gewichtsverteilungsfaktor — erscheint von 6-stündiger Einwirkungsdauer an als einfache Proportionalität. Der Gewichtsverteilungsfaktor ist bei kurzen Zeiten von der Einwirkungsdauer offenbar nicht unabhängig (Tabelle 5), bleibt aber bei gleicher Einwirkungsdauer und in derselben Versuchsgruppe ziemlich ähnlich. Von einem Gang mit der Konzentration ist nichts zu bemerken. Es kann somit ausgeschlossen werden, daß das auswaschbare Sublimat adsorbiert war. Es muß vielmehr angenommen werden, daß das Sublimat, das zum Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getreten und keine chemische Bindung mit diesem eingegangen war, sich im Eiweiß des Koagulums wie in Wasser in Form einer echten Lösung befindet und sich zwischen Eiweißphase und wässeriger Flotte nach konstantem Faktor verteilt ist, also das Molekulargewicht des gelösten Stoffes in beiden Phasen dasselbe ist.

Eiweißgewicht und Volumen der wässerigen Kochsalzlösung des Ausgangskoagulums ergaben sich nach bekannten Beziehungen aus Tabelle 1 und 3.

Die gesamte aus der Flotte verschwundene und daher nach den früheren Auseinandersetzungen zum Eiweiß des Koagulums in enge Beziehung getretene Sublimatmenge war bei den Versuchen, in denen nur am Ende des Versuches Proben der Flotte analysiert wurden, gleich der Differenz des Sublimatgehaltes der wässerigen Ausgangs- und Endflotte. Ersterer ergab sich aus der Anzahl der zugesetzten ccm Sublimatstammlösung, letzterer war das Produkt aus der in 10 ccm Endflotte gefundenen Sublimatmenge und des zehnten Teiles des Volumens der Flotte. Das Volumen der Flotte war natürlich die Summe der Volumina des zum Versuch genommenen Wassers und Sublimatstammlösung und der im eingewogenen Koagulumstück enthaltenen wässerigen Kochsalzlösung. Bei jenen Versuchen aber, bei denen öfters, und zwar zu verschiedenen aufeinanderfolgenden Zeiten Probeentnahmen erfolgten (Versuchsreihe I, II und III), mußte für die zweite und folgende Entnahme eine andere Art der Berechnung eingeschlagen werden. Die aus der Flotte verschwundene Sublimatmenge ergab sich hier als die Summe der im vorangegangenen Zeitabschnitt und der seit der vorigen Entnahme verschwundenen. Erstere war bereits bei der Berechnung der sich aus der früheren Probeentnahme ergebenden Resultate erhalten worden, letztere war gleich der Differenz der Sublimatmengen, die zu Beginn und am Ende dieses Zeitabschnittes in der Flotte zugegen waren. Der erstere dieser Werte war gleich dem Produkt der in 10 ccm der vorangegangenen Probeentnahme gefundenen Sublimatmenge und dem zehnten Teile des Flottenvolumens, das zu Beginn dieses Zeitabschnittes noch zugegen war. Dieses Volumen war gleich dem vor der früheren Probeentnahme vorhandenen Flottenvolumens abzüglich des bei dieser früheren Probeentnahme entnommenen Flüssigkeitsvolumens. Der Sublimatgehalt, der am Ende dieser Zeitperiode zugegen war, war natürlich gleich dem Produkte der in 10 ccm dieser Probeentnahme gefundenen Sublimatmenge und dem zehnten Teil des Flottenvolumens, das zu Beginn dieses Zeitabschnittes zugegen war. Die bei den einzelnen Probeentnahmen aus der Flotte entnommenen Flüssigkeitsvolumina betrugen bei der Versuchsreihe I je 10 ccm, bei den Versuchsreihen II und III je 20 ccm. Durch Division dieser Zahl durch das Eiweißgewicht des Ausgangskoagulums gelangte man zu der pro 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums verschwundenen Sublimatmenge (Tabelle 3, Stab 9).

Der nicht auswaschbare Teil jener Sublimatmenge wurde nach der Formel $a \cdot b \cdot 1{,}3537$ berechnet, wobei a wieder den Quecksilbergehalt von 1 g Protein-Quecksilberverbindung, b das Eiweißgewicht der eingewogenen Koagulum-

Tabelle 3.

Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.

Quecksilbergehalt der im gewaschenen Koagulum vorhandenen Protein-Quecksilberverbindung. Gewichtsverteilungsfaktor Eiweiß-Wasser für Sublimat.

A = mit Benützung des im betreffenden Versuche ermittelten Quecksilbergehaltes der Protein-Quecksilberverbindung.

B = mit Benützung des arithmetischen Mittels der im betreffenden Zeitabschnitte gefundenen Werte des Quecksilbergehaltes der Protein-Quecksilberverbindung.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung	Versuchsreihe	Versuch-Nr.	Gewicht des Ausgangskoagulums g	Zum Versuche wurden genommen ccm: Sublimatstammlösung	Wasser	Sublimatgehalt der Endflotte %g/ccm	Quecksilbergehalt von 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums g	Pro 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums: verschwundene Sublimatmenge g	auswaschbare Sublimatmenge g *A*	*B*	Gewichtsverteilungsfaktor Eiweiß-Wasser für Sublimat *A*	*B*
1/4 Std.	V.	1	10,9730	70	30	3,554	0,08533	0,2188	0,1034	0,1256	2,91	3,53
	V.	2	12,1997	50	50	2,410	0,07624	0,2157	0,1125	0,1225	4,67	5,08
	V.	3	11,3989	30	70	1,445	0,05994	0,1460	0,0648	0,0528	4,49	3,65
	V.	4	12.7427	20	80	0,9256	0,05389	0,1061	0,0331	0,0129	3,58	1,39
1 Std.	VII.	1	8,8660	100		5,744	0,1085	0,3104	0,1639	0,2024	2,85	3,52
	V.	1a	9,5135	70	30	3,326	0,09595	0,4979	0,3682	0,3899	11,07	11,73
	VII.	2	11,6459	50	50	2,696	0,1014	0,1966	0,0593	0,0886	2,20	3,29
	V.	2a	10,2573	50	50	3,317	0,07482	0,3681	0,2670	0,2601	11,52	11,22
	VII.	3	7,5117	25	75	1,430	0,08474	0,1152		0,0072		0,50
	V.	3a	9,8744	30	70	1,406	0,04658	0,2189	0,1558	0,1109	11,08	7,89
	V.	4a	11,0325	20	80	0,8696	0,04630	0,1777	0,1150	0,0697	13,23	8,02
3 Std.	IV.	1	6,2713	25	25	2,271	0,1073	0,3412	0,1959	0,2245	8,63	9,89
	IV.	2	6,1667	10	40	0,8052	0,07313	0,2245	0,1256	0,1078	15,59	13,39
	IV.	3	5,0996	5	45	0,4412	0,07818	0,1049				
6 Std.	VII.	1a	9,0582	100		5,130	0,1191	0,8329	0,6718	0,7100	13,09	13,84
	VII.	2a	9,8946	50	50	2,317	0,08655	0,5668	0,4496	0,4439	19,41	19,16
	IV.	1a	5,9575	25	25	2,101	0,1068	0,5112	0,3667	0,3883	17,46	18,49
	VII.	3a	8,8565	25	75	1,214	0,08262	0,2767	0,1649	0,1538	13,58	12,67
	IV.	2a	7,5315	10	40	0,7400	0,07563	0,2162	0,1137	0,0933	15,37	12,61
	IV.	3a	4,4179	5	45	0,4140	0,07430	0,1566	0,0560	0,0337	13,53	8,14
1 Tag	VII.	1b	4,2959	100		5,702	0,1379	1,090	0,9030	0,9494	15,84	16,65
	VIII.	1	8,1635	100		5,281	0,1061	0,8915	0,7480	0,7509	14,16	14,25
	VI.	1	16,8263	100		3,980	0,08454	0,6855	0,5711	0,5449	14,35	13,69
	VIII.	2	11,2811	80	20	3,956	0,1066	0,6607	0,5164	0,5201	13,06	13,15
	VIII.	3	14,1826	70	30	3,280	0,1041	0,5336	0,3927	0,3930	11,97	11,98
	II.	1	10,3193	70	30	3,274		0,5721		0,4315		13,18
	VIII.	4	10,0583	60	40	3,163	0,08636	0,3930	0,2760	0,2524	8,74	7,98
	VII.	2b	6,7594	50	50	2,906	0,1286	0,2204	0,0464	0,0798	1,60	2,75
	II.	2	10,4540	50	50	2,242		0,5025		0,3619		16,14
	IV.	1b	5,5150	25	25	2,195		0,4817	0,3133	0,3411	14,28	15,54
	III.	1a	11,5475	50	50	2,182	0,09986	0,4826	0,3475	0,3420	15,92	15,66
	III.	1	12,4004	50	50	2,095		0,5131		0,3725		17,78
	VI.	4	17,5495	50	50	1,756		0,4472		0,3066		17,46
	VI.	2	18,3493	50	50	1,754		0,4233		0,2827		16,12
	Va	1a	18,5315	50	50	1,719	0,1011	0,4314	0,2945	0,2908	17,13	16,92

Tabelle 3 (Fortsetzung).

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung	Versuchsreihe	Versuch-Nr.	Gewicht des Ausgangskoagulums	Zum Versuche wurden genommen ccm: Sublimatstammlösung	Wasser	Sublimatgehalt der Endflotte	Quecksilbergehalt von 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums	Pro 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums: verschwundene Sublimatmenge	auswaschbare Sublimatmenge g		Gewichtsverteilungsfaktor Eiweiß-Wasser für Sublimat	
			g			‰g/ccm	g	g	A	B	A	B
1 Tag	VII.	3b	5,0932	25	75	1,395	0,1053	0,3127	0,1701	0,1721	12,19	12,34
	II.	3	10,1741	30	70	1,290		0,3412		0,2006		15,55
	VI.	6	30,2181	50	50	1,272	0,1204	0,3715	0,2086	0,2309	16,40	18,15
	III.	2	12,6556	30	70	1,251		0,3046		0,1640		13,11
	III.	2a	12,5440	30	70	1,229	0,1057	0,3276	0,1845	0,1870	15,01	15,22
	VI.	3	13,5671	25	75	0,8754	0,09755	0,3094	0,1773	0,1688	20,26	19,29
	VI.	5	15,5235	25	75	0,8170		0,2970		0,1564		19,14
	II.	4	10,5348	20	80	0,7913		0,3094		0,1688		21,33
	IV.	2b	6,9675	10	40	0,7062	0,1170	0,2631	0,1047	0,1225	14,83	17,35
	III.	3a	10,2683	15	85	0,5719	0,08940	0,2560	0,1349	0,1154	23,60	20,18
	III.	3	14,3003	15	85	0,5077		0,2202		0,0796		15,68
	Va	2a	21,9880	20	80	0,4552	0,08890	0,2385	0,1182	0,0979	25,96	21,51
	IV.	3b	4,9429	5	45	0,4143	0,09129	0,1363	0,0127		3,06	
	II.	5	10,5145	10	90	0,3408		0,2122		0,0716		21,01
	III.	4a	9,4625	5	95	0,2042	0,07848					
	III.	4	10,4484	5	95	0,1891		0,0858				
	VI.	7	21,2717	10	90	0,1657		0,1531		0,0125		7,54
5 Tage	II.	1	10,3193	70	30	3,231						
	II.	2	10,4540	50	50	2,211						
	I.	1	7,2921	100		1,401						
	I.	2	8,7027	100		1,377						
	II.	3	10,1741	30	70	1,260						
	II.	4	10,5348	20	80	0,7761						
	II.	5	10,5145	10	90	0,3244						
10 Tage	II.	1	10,3193	70	30	3,189						
	II.	2	10,4540	50	50	2,177						
	I.	1	7,2921	100		1,365						
	I.	2	8,7027	100		1,247						
	II.	3	10,1741	30	70	1,202						
	II.	4	10,5348	20	80	0,7610						
	II.	5	10,5145	10	90	0,2976						
15 Tage	VIII.	1a	11,9163	100		4,879	0,1682	0,8163	0,5885	0,5925	12,06	12,15
	VIII.	2a	14,7071	80	20	3,700	0,1324	0,6112	0,4319	0,3874	11,67	10,47
	VIII.	3a	12,1874	70	30	3,195	0,1892	0,7345	0,4784	0,5107	14,97	15,99
	II.	1	10,3193	70	30	3,157	0,1930	0,6725	0,4113	0,4487	13,03	14,21
	VIII.	4a	10,9613	60	40	2,941	0,1766	0,5406	0,3015	0,3168	10,25	10,77
	II.	2	10,4540	50	50	2,130	0,1361	0,5736	0,3894	0,3498	18,28	16,42
	III.	1	12,4004	50	50	2,007	0,1762	0,5765	0,3380	0,3527	16,84	17,58
	I.	1	7,2921	100		1,326		0,4262		0,2024		15,27
	I.	2	8,7027	100		1,223		0,4770		0,2532		20,71
	II.	3	10,1741	30	70	1,185	0,1816	0,4470	0,2013	0,2232	16,99	18,84
	III.	2	12,6556	30	70	1,138	0,1465	0,3862	0,1879	0,1624	16,51	14,27
	II.	4	10,5348	20	80	0,7412	0,1482	0,3400	0,1395	0,1162	18,82	15,68
	III.	3	14,3003	15	85	0,3886	0,1680	0,2957	0,0683	0,0719	17,57	18,50
	II.	5	10,5145	10	90	0,2976	0,1682	0,2438	0,0162	0,0200	5,43	6,72

Tabelle 4.

Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.

Mittlerer Wert, Variationskoeffizient, mittlerer Fehler der Einzelmessung und des Mittelwertes des Gewichtsverteilungsfaktors Eiweiß-Wasser für Sublimat bei verschiedenem Sublimatgehalt der Endflotte von einer Berührungszeit von Koagulum und Sublimatlösung, von sechs Stunden angefangen. *A* und *B* wie in Tabelle 3.

(Bei dieser Berechnung wurden die Versuche: Versuchsreihe VII, Versuch 2b; Versuchsreihe III, Versuchs 4 und 4a als offenbar fehlerhaft ausgeschieden).

Sublimatgehalt der Endflotte	*A*					*B*				
	Anzahl der Versuche	Gewichtsverteilungsfaktor				Anzahl der Versuche	Gewichtsverteilungsfaktor			
		Mittlerer Wert	Variationskoeffizient	Mittlerer Fehler d. Einzelmessung	Mittlerer Fehler d. Mittelwertes		Mittlerer Wert	Variationskoeffizient	Mittlerer Fehler d. Einzelmessung	Mittlerer Fehler d. Mittelwertes
0,0—0,5	5	13,110 ± 9,290	70,87%	± 9,290	± 4,155	6	13,903 ± 7,139	51,34%	± 7,139	± 2,914
0,5—1,0	5	18,576 ± 4,431	23,85%	± 4,431	± 1,981	8	17,481 ± 3,298	18,87%	± 3,298	± 1,166
1,0—2,0	7	15,401 ± 1,892	12,29%	± 1,892	± 0,715	13	15,892 ± 3,157	19,86%	± 3,157	± 0,876
2,0—3,0	7	16,073 ± 3,054	19,00%	± 3,054	± 1,154	9	18,552 ± 3,378	18,21%	± 3,378	± 1,126
3,0—4,0	7	12,541 ± 2,049	16,33%	± 2,049	± 0,774	8	12,581 ± 2,455	19,51%	± 2,455	± 0,868
4,0—5,0	1	12,06				1	12,15			
5,0—6,0	3	14,363 ± 1,386	9,67%	± 1,386	± 0,800	3	14,913 ± 1,518	10,18%	± 1,518	± 0,876
0,5—6,0	30	14,869 ± 3,141	21,12%	± 3,141	± 0,573	42	15,547 ± 2,945	18,94%	± 2,945	± 0,455

menge und 1,3537 den Umrechnungsfaktor von Hg auf $HgCl_2$ bezeichnet. Die Kritik dieser Berechnungsart wurde bereits an anderer Stelle dargelegt.

Durch Subtraktion dieser Menge von der Gesamtmenge und Division dieses Wertes durch das Eiweißgewicht des Ausgangskoagulums gelangte man zu der auf ein Gramm Eiweiß des Ausgangskoagulums entfallenden Menge des auswaschbaren Sublimates (Tabelle 3, Stab 10 und 11).

Die festgestellten Zahlen für den Gewichtsverteilungsfaktor zeigten keinen nennenswerten Unterschied, ob man bei der Berechnung die in den betreffenden Versuchen ermittelte Menge des an 1 g Eiweiß des Koagulums gebundenen Quecksilbers oder das arithmetische Mittel der für die betreffende Einwirkungsdauer gefundenen Werte derselben Größe benützte (Tabelle 4). Unterhalb einer Konzentration von 0,5% Sublimat in der Endflotte sind die erhaltenen Werte sehr schwankend, was bei dem großen Einfluß, den bei solch niederen Konzentrationen Versuchsfehler auf das Resultat haben, zu erwarten war. Es wurden daher auch die Resultate dieser Versuche weiter nicht verwertet.

Der mittlere Wert des Gewichtsverteilungsfaktors Eiweiß-Wasser für Sublimat betrug im Konzentrationsbereich 0,5—6,0% Sublimat in der Endflotte

$$15{,}547 \pm 2{,}945 \text{ (Var.-Koeff.} = 18{,}94\%).$$

Der mittlere Fehler der Einzelmessung betrug ± 2,945, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,455.

Die Tatsache, daß es unterhalb einer sechsstündigen Berührungsdauer noch zu keinem Diffusionsausgleich gekommen war, beweist somit das Zutreffen der bei der Besprechung der Resultate der Versuche über den Quecksilbergehalt des gewaschenen Koagulums gemachten Annahme,

Tabelle 5.
Arithmetisches Mittel des Gewichtsverteilungsfaktors Eiweiß-Wasser bei verschiedener Einwirkungsdauer. (*A* und *B* wie in Tabelle 3.)

Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung	Gewichtsverteilungsfaktor	
	A	*B*
1/4 Stunde	3,91	3,41
1 Stunde	8,66	7,71
3 Stunden	12,11	11,64
6 Stunden	15,41	14,15
1 Tag	15,10	15,85
15 Tage	14,37	14,83

daß bei ¼- bis 6-stündiger Berührungsdauer die Abhängigkeit des Quecksilbergehaltes des gewaschenen Koagulums durch Nichterreichen des Sättigungsgleichgewichtes bedingt sei. Die chemische Bindungsreaktion verläuft sodann sehr rasch. Sie ist aber abhängig von der Diffusionsgeschwindigkeit, mit der sich das Sublimat in der Eiweißphase ansammelt.

Eine genaue Berechnung des Volumsverteilungsfaktors nach Analogie der von Reichel[42]) gegebenen Darstellung der Phenolverteilung hätte zur Voraussetzung, daß glaubhafte Annahmen über den Einfluß der Quecksilber- und Chlorbindung sowohl als auch der Sublimatlösung auf das Eiweißvolumen zu machen sind. Diese Einflüsse sind unzweifelhaft bei der Größe der vorkommenden Bindungs- und Lösungsverhältnisse sehr bedeutend und dürften also nicht vernachlässigt werden. Zu ihrer Ermittlung wäre jedoch die Anstellung zahlreicher zum Teil recht komplizierter Versuche und Berechnungen notwendig gewesen, weshalb man sich wegen des doch mehr orientierenden Charakters der vorliegenden Untersuchung mit der Berechnung des Gewichtsverteilungsfaktors, der in erster Annäherung als ein proportionales Maß des Volumsverteilungsfaktors zu betrachten ist, begnügte.

Zum Schlusse dieses Kapitels sollte noch die Frage erörtert werden, durch welche Momente die Bindungsgröße der Protein-Quecksilber- und Protein-Salzsäureverbindung und deren Zunahme mit der Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung bedingt sein dürfte.

Bereits schon früher wurde auseinandergesetzt, daß die Bindungsgröße der Protein-Quecksilberverbindung eine derartige ist, daß die bei der Entstehung dieser Verbindung sich bildende Salzsäure nach dem für das Rinderserumkoagulum bestimmten Salzsäurebindungsvermögen, das in guter Übereinstimmung mit dem für genuine Eiweißkörper bekannten stand, durch das verwendete Eiweiß gebunden werden kann. Diese Tatsache drängte uns zu der Annahme, daß vielleicht das bestimmende Moment für die Bindungsgröße des Quecksilbers eben jene Affinität des Salzsäureradikales zu den Eiweißkörpern ist, daß somit die Größe des Salzsäurebindungsvermögens für Eiweißkörper entscheidend für die Bindungsgröße der Protein-Quecksilberverbindung sei. Damit würde sich auch die Zunahme der Bindungsgröße der Protein-Quecksilberverbindung mit der

Tabelle 6. Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.
Quecksilbergehalt der im gewaschenen Koagulum vorhandenen Protein-Quecksilberverbindung. Verteilungsverhältnisse Eiweiß-Wasser für Quecksilbercyanid.

Versuchsreihe Nr. IX. 10 ccm Quecksilbercyanidstammlösung gaben 0,5360 g HgS. *A* und *B* wie in Tabelle 3.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Dauer der Berührung von Koagulum und Quecksilbercyanidlösung in Tagen	Versuch-Nr.	Gewicht des Ausgangskoagulums	Zum Versuche wurden genommen ccm		Quecksilbercyanidgehalt der Endflotte	Quecksilbergehalt von 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums	Pro 1 g Eiweiß des Ausgangskoagulums			Gewichtsverteilungsfaktor Eiweiß-Wasser für Quecksilbercyanid	
			Quecksilbercyanidstammlösung	Wasser			verschwundene Quecksilbercyanidmenge	auswaschbare Quecksilbercyanidmenge g			
		g			°/0 g/ccm	g	g	*A*	*B*	*A*	*B*
1	1	19,8255	100		4,858		0,0499			1,03	
	2	19,5827	80	20	3,811		0,0991			2,60	
	3	25,4300	60	40	2,807		0,0155			0,55	
	4	24,3477	40	60	1,887		0,0108			0,57	
	5	20,3525	20	80	0,9500		0,0216			2,28	
	6	20,4392	10	90	0,4777		0,0087			1,83	
15	1a	18,1252	100		4,885	0,01087	0,0821	0,0674	0,0692	1,38	1,42
	2a	19,4175	80	20	3,811	0,00902	0,1036	0,0914	0,0907	2,40	2,38
	3a	22,6074	60	40	2,714	0,00956	0,1143	0,1014	0,1014	3,74	3,74
	4a	26,5249	40	60	1,846	0,01003	0,0162	0,0026	0,0033	0,14	0,18
	5a	21,6770	20	80	0,8795	0,01075	0,0604	0,0458	0,0329	5,21	3,74
	6a	20,2050	10	90	0,4343	0,00688	0,0397	0,0304	0,0175	7,00	4,03

Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung einfach erklären. Sie wäre eben dadurch bedingt, daß, wie schon früher auseinandergesetzt wurde, durch den hydrolytischen Abbau des gebundenen Eiweißes Eiweißspaltprodukte mit höherem Salzsäurebindungsvermögen entstehen. Diese Auffassung konnte gestützt werden durch das Resultat der Versuche über das Verhalten des Quecksilbercyanides zu Rinderserumkoagulum.

Die Versuchsanordnung, Methodik der Quecksilberbestimmung und Berechnung dieser Versuche war dieselbe wie bei den Versuchen mit Sublimat und Koagulum. Gewogene feuchte Koagulumstückchen wurden mit verschiedenen konzentrierten Quecksilbercyanidlösungen 1 bzw. 15 Tage in Berührung gebracht, dann einerseits der Quecksilbergehalt der Endflotte bestimmt, anderseits das aus der Flotte herausgenommene Koagulumstück 8 Tage in fließendem Wasser gewaschen und dann sein Gehalt an Trockenkoagulum, Asche und Quecksilber bestimmt. Das Verhältnis von Trockenkoagulum zu Asche war beim gewaschenen Koagulum annähernd dasselbe wie beim Ausgangskoagulum, worauf bei der Berechnung des Eiweißgewichtes des gewaschenen Koagulums Rücksicht genommen wurde.

Bei diesen Versuchen zeigte sich nämlich, daß bei der Berührung von Koagulum und einer Quecksilberverbindung, deren Säure schwächer als Kohlensäure ist, nur langsam eine Protein-Quecksilberverbindung entsteht und daß die Bindungsgröße dieser Verbindung auch nach 15-tägiger Berührung nur etwa $^1/_{15}$ des Wertes erreicht, der beim Sublimat gefunden wurde (Tabelle 6).

Der mittlere Wert des Quecksilbergehaltes der im gewaschenen Koagulum nach 15-tägiger Berührungsdauer vorhandenen Protein-Quecksilberverbindung betrug

$$0{,}9518 \pm 0{,}1552\% \text{ (Var.-Koeff.} = 16{,}31\%).$$

Der mittlere Fehler der Einzelmessung war somit $\pm$ 0,1552 der mittlere Fehler des Mittelwertes $\pm$ 0,0634.

Die Streuung dieser Werte war ungefähr dieselbe, wie die für den Wert der Quecksilberverbindung aus Sublimatlösungen, wie aus der guten Übereinstimmung der betreffenden Variationskoeffizienten hervorgeht.

Würde die Bindungsgröße der Protein-Quecksilberverbindung in erster Linie durch die Affinität des Quecksilbers bedingt sein, so müßte dieselbe bei Verwendung einer Quecksilbercyanidlösung als Flotte doch mindestens ebensogroß sein, wie bei der Verwendung einer Sublimatlösung, besonders da doch ceteris paribus eine Cyanverbindung sicherlich leichter zu sprengen ist als eine Salzsäureverbindung.

Die Berechnung des Gewichtsverteilungsfaktors ergab hier keine so eindeutigen Resultate wie bei den Sublimatversuchen. Die Werte des nach eintägiger Dauer der Berührung auswaschbaren Quecksilbercyanides waren allzu gering, die nach 15-tägiger Berührungszeit zu schwankend, aber auch ohne deutlichen Gang mit der Konzentration der Endflotte. Die später zu besprechenden Versuche mit Hefe bewiesen jedoch, daß sich auch das Quecksilbercyanid zwischen Hefeeiweiß und Wasser wie zwischen zwei Lösungsmitteln verteile. Man muß daher annehmen, daß auch hier eine echte Lösung vorliege, die nur durch die hier gegebene Versuchsanordnung nicht erweisbar war.

2. Die Sublimatverteilung zwischen Öl und Wasser.

Die nächsten Versuche hatten die Frage zu klären, wie sich Sublimat gegenüber lipoiden Phasen als deren Vertreter nach Reichels[42]) Vorgang Öl gewählt wurde, verhalte. Es war festzustellen, ob Sublimat in solchen Phasen gebunden oder gelöst wird und in welchem Zustand es sich etwa dort in Lösung befindet. Zu diesem Zwecke wurden annähernd gleiche Mengen von Rüböl mit verschieden konzentrierten Sublimatlösungen einen Tag in Berührung gebracht und sodann der Sublimatgehalt der Endflotte durch Bestimmung der in ihr enthaltenen Quecksilbermenge ermittelt.

Bei den Wägungen des Öles war natürlich wegen der Größe der Einwage und des bedeutenden Unterschieds zwischen dem spezifischen Gewicht des Öles und der Messinggewichte eine Reduktion der mit Messinggewichten in der Luft ausgeführten Wägungen auf den leeren Raum erforderlich. Der Reduktionsfaktor ergab sich aus dem ermittelten spezifischen Gewicht des Öles, das nach der Pyknometermethode bestimmt war.

Das Quecksilber wurde gewichtsanalytisch wie bei den Versuchen mit Rinderserumkoagulum bestimmt. Der ermittelte Quecksilbersulfidwert wurde einfach auf Sublimat umgerechnet, da eine Cl-Bestimmung, die bei Versuch Nr. 3 in der Endflotte ausgeführt worden war, ergeben hatte, daß gerade soviel Chlor vorhanden war, als dem ermittelten Quecksilber nach der Formel des Sublimates entsprach. Der Sublimatgehalt der Ausgangsflotte ergab sich natürlich aus der Anzahl der zugesetzten ccm Sublimatstammlösung, der der Endflotte aus der Analyse. Die Differenz dieser beiden Werte wurde als die in das Öl übergegangene

Tabelle 7. **Versuche mit Rüböl.**

Verteilungsverhältnisse Rüböl-Wasser für Sublimat. Dauer der Berührung von Rüböl und Sublimat: 1 Tag. Spez. Gewicht des Rüböls: 0,9124 bei 22° C. 10 ccm Sublimatstammlösung gaben 0,5133 g HgS.

Versuch Nr.	Gewicht des Öles g	Zum Versuche wurden genommen ccm		Sublimatgehalt der Endflotte %/ₒ g/ccm	Pro 100 g Öl verschwundene Sublimatmenge	Gewichtsverteilungsfaktor Öl-Wasser für Sublimat
		Sublimatstammlösung	Wasser			
1	8,8996	40		5,707	1,282	0,2246
2	10,0449	30	10	4,248	0,9658	0,2273
3	8,8759	20	20	2,854	0,6310	0,2210
4	8,8738	10	30	1,424	0,3313	0,2327

Sublimatmenge angenommen. Das Verhältnis der Gewichtskonzentration von Sublimat im Öl zur Endkonzentration der Flotte ergab den Gewichtsverteilungsfaktor Öl-Wasser für Sublimat.

Die Versuche (Tabelle 7), ergaben, daß sich Sublimat zwischen Öl und Wasser nach einem recht genau konstanten Faktor verteilt, dessen mittlerer Wert 0,2264 ± 0,0049 (Var.-Koeff. = 2,18%) betrug. Der mittlere Fehler der Einzelmessung ergab ± 0,0049, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,0025.

Der Befund spricht eindeutig für das Fehlen chemischer Bindung und das Bestehen einer echten Lösung, wobei dem Sublimat in beiden Phasen dasselbe Molekulargewicht zukommt. Die Gewichtskonzentration des Öles im Sublimat beträgt etwa $^1/_5$ des Wertes für die wässerige Phase. Die Gegenwart öliger Phasen bedingt demnach beim Sublimat im Gegensatz zu den Phenolkörpern keinen sehr bedeutenden Verlust an Desinfektionskraft der Sublimatkonzentration der wässerigen Phase, doch erscheint das Teilungsverhältnis immerhin hoch genug, um eine rasche Diffusion des Sublimates durch etwaige lipoide Zellhüllen erwarten zu lassen.

3. Das Verhalten von Sublimat gegenüber Hefe.

Die Versuche über das Verhalten von Sublimat gegenüber Mikroorganismen, als deren Vertreter Hefe genommen wurde, hatte die gleiche Anordnung, wie die Versuche mit Sublimat und Rinderserumkoagulum; nur wurde der Hefebrei zur Feststellung der chemisch gebundenen Quecksilbermenge, nachdem er die gewünschten Zeiten mit den verschieden konzentrierten Sublimatlösungen in Berührung war, nicht im fließenden Hochquellenwasser gewaschen, sondern in Dialysierhülsen gegen fließendes Hochquellenwasser 14 Tage dialysiert. Nach dieser Zeit konnte in der in den Dialysierhülsen über dem abgesetzten Brei befindlichen klaren Flüssigkeit kein Quecksilber mehr nachgewiesen werden.

Das spezifische Gewicht und die Zusammensetzung der verwendeten Hefen ist in der Tabelle 8 dargestellt. In der Asche wurde qualitativ Natrium, Kalzium, Magnesium, Chlor, Schwefelsäure und Phosphorsäure nachgewiesen, so daß die zur Ermittlung der Zusammensetzung des koagulierten Rinderserums dienende Berechnungsart auch hier angewendet werden konnte. Bei der Bestimmung des

Tabelle 8. **Versuche mit Hefe.**

Spezifisches Gewicht und Zusammensetzung der verwendeten Hefen.

			Symbol	Versuchsreihe I	II	III	IV
Temperatur, bei der die Wägungen ausgeführt wurden				16° C	13° C	13° C	15° C
bestimmt		Spezifisches Gewicht der Hefe	s_h	1,111	1,086	1,092	1,080
bestimmt	Relatives Gewicht in g/g	Trockenhefe	m_{th}	30,082	26,055	27,124	24,376
		Wasser	m_{H_2O}	69,918	73,945	72,876	75,624
		Organische Hefebestandteile	m_{oh}	27,590	24,324	25,087	21,365
		Asche	m_a	2,492	1,731	2,037	2,011
		Kochsalz	m_{NaCl}	0,022	0,006	0,015	0,010
		Wasserunlösliche Asche	m_{ula}	2,470	1,725	2,022	2,001
berechnet		Spezifisch. Gewicht der Trockenhefe	s_{th}	1,492	1,435	1,452	1,436
berechnet	Relatives Volumen in ccm/g	Hefe	v_h	90,01	92,09	91,59	92,60
		Wässerige Kochsalzlösung	$v_{H_2O + NaCl}$	69,92	73,94	72,88	75,63
		Organische Hefebestandteile	v_{oh}	19,208	16,534	17,988	16,255
		Kochsalz	v_{NaCl}	0,010	0,003	0,007	0,005
		Wasserunlösliche Asche	v_{ula}	0,882	0,616	0,722	0,715

spezifischen Gewichtes der Trockenhefe ergaben sich dieselben Schwierigkeiten, wie bei der Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Trockenkoagulums. Daher mußte dieser Wert hier ebenfalls berechnet werden. Der höchste mit der Pyknometermethode ermittelte Wert war 1,412. Die bei der zweiten Berechnung erhaltenen Werte lauteten 1,492, 1,435, 1,452, 1,436, somit der mittlere Wert für das spez. Gewicht der Trockenhefe 1,4538 ± 0,0267 (Var.-Koeff. = 1,83 %). Der mittlere Fehler der Einzelmessung betrug ± 0,0267, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,0134.

Mit Hilfe des diesem Mittelwert entsprechenden Reduktionsfaktors $K = 0{,}68$ wurden dann alle mit Messinggewichten ausgeführten Wägungen der Trockenhefe auf den leeren Raum reduziert. Der Gehalt an Gewicht der organischen Hefebestandteilen in g/g ergab sich nach der Formel $m_{oh} = m_{th} - m_a$, deren Volumen in ccm/g nach der Formel

$$v_{oh} = v_h - (v_{H_2O + NaCl} + v_{ula}).$$

Das Gewicht der bei den einzelnen Versuchen eingewogenen Hefepartien wurde natürlich auch hier auf den leeren Raum reduziert. Die in der Tabelle 9 angegebenen Werte sind die reduzierten Gewichte.

Auch hier zeigte sich, daß Sublimat aus der Flotte verschwunden war. Die Übereinstimmung der aus dem gefundenen Quecksilbersulfid nach der Formel des Sublimates berechneten äquivalenten Chlormenge mit der analytisch gefundenen, ist eine ziemlich gleich gute wie bei den Versuchen mit Rinderserumkoagulum.

Es betrug nämlich bei einem Sublimatgehalt in 10 ccm der Endflotte

von Grammen	das Mittel der Abweichungen	Anzahl der Versuche
0,09—0,10	0,00087	3
0,10—0,20	0,00078	4
0,20—0,30	0,00057	5
0,30—0,50	0,00066	5
über 0,50	0,00087	3

In der durch Dialyse gewaschenen Hefe wurde sowohl Quecksilber wie Chlor gefunden.

Die Bestimmungsmethoden für diese beiden Stoffe in der gewaschenen Hefe waren dieselben wie beim gewaschenen Rinderserumkoagulum; ebenso die Art der Berechnung des spezifischen Gewichtes der gewaschenen Hefe. Die gewaschene Hefe war ebenfalls praktisch aschefrei, so daß das Trockenhefegewicht dem Gewicht der organischen Bestandteile der Hefe entsprach.

Die gefundene Chlormenge betrug bei 1-tägiger Dauer der Berührung von Hefe und Sublimatlösung 16,77—98,95%, bei 10-tägiger Berührung 24,32—34,86%[1]) jener Chlormenge, die nach der Formel des Sublimates dem gefundenen Quecksilber äquivalent war. Es war also auch bei der Hefe keine Bindung zwischen dem gefundenen Quecksilber und dem gefundenen Chlor anzunehmen. Im Durchschnitt war relativ (im Verhältnis zum gefundenen Quecksilber) mehr Chlor in der durch Dialyse gewaschenen Hefe vorhanden als im gewaschenen Rinderserumkoagulum.

Auch bei der Hefe ergab sich, daß die Chlormenge, die dem chemisch gebundenen Quecksilber entsprach, im wesentlichen nicht in die Flotte übergeht. Bei vollständigem Übertritt dieser Chlormenge in die Flotte müßte sich ungefähr eine zehnmal größerer Chlorüberschuß ergeben als analytisch gefunden wurde. Diese Berechnung wurde analog jener beim Rinderserumkoagulum durchgeführt.

Die Ergebnisse dieser Versuche zeigten die auf 1 g organische Bestandteile der durch Dialyse gewaschenen Hefe entfallende Quecksilbermenge als eine ziemlich konstante Größe, die keine sichtliche Abhängigkeit von der Konzentration der Endflotte aufwies (Tabelle 9, Stab 8).

Der mittlere Wert des Quecksilbergehaltes der auf 100 g organische Bestandteile der durch Dialyse gewaschenen Hefe entfallende Quecksilbermenge betrug nach 1-tägiger Berührungsdauer von Hefe und Sublimatlösung

$$8{,}966 \pm 2{,}520\% \text{ (Var.-Koeff.} = 28{,}11\%);$$

nach 10-tägiger Berührungsdauer von Hefe und Sublimatlösung

$$12{,}815 \pm 0{,}651\% \text{ (Var.-Koeff.} = 5{,}08\%).$$

Der mittlere Fehler der Einzelmessung betrug somit nach diesen beiden Berührungszeiten + 2,520 bzw. ± 0,651, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,727 bzw. ± 0,266, somit ziemlich ähnliche Werte wie bei der Bestimmung des Quecksilbergehaltes des gewaschenen Koagulums.

Diese Tatsache beweist, daß auch hier das in der durch Dialyse gewaschenen Hefe gefundene Quecksilber in der Form einer chemischen Verbindung vorhanden war.

Zum Eingehen einer chemischen Verbindung mit den Schwermetallsalzen kommen unter den Stoffen, aus denen die Hefe besteht, in erster Linie natürlich die Eiweißkörper in Betracht; ferner dann eventuell vorhandene Abbauprodukte der Eiweißkörper und Extraktivstoffe.

Nach den ziemlich gut übereinstimmenden Literaturangaben über die Zusammensetzung der Hefe besteht die organische Substanz derselben aus rd. 60% Protein (berechnet aus Stickstoff).

1) In den einzelnen Versuchen lauteten diese Verhältniszahlen: bei 1-tägiger Berührung 16,77%, 37,27%, 25,01%, 19,18%, 71,02%, 92,88%, 98,95%, 63,45%; bei 10-tägiger Berührung 24,23%, 28,58%, 37,06%, 30,19%, 34,89%, 28,51%.

Tabelle 9. **Versuche mit Hefe.**

Quecksilbergehalt der in der gewaschenen Hefe vorhandenen Protein-Quecksilberverbindung. Gewichtsverteilungsfaktor Hefeeiweiß-Wasser für Sublimat. *A* und *B* wie in Tabelle 3. 10 ccm der Sublimatstammlösung gaben bei Versuchsreihe I 0,5991 g HgS, bei Versuchsreihe II und III 0,4598 g HgS.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Dauer der Berührung von Hefe und Sublimatlösung in Tagen	Versuchsreihe	Versuch-Nr.	Gewicht der Hefe	Zum Versuche wurden genommen ccm		Sublimatgehalt der Endflotte	Quecksilbergehalt von 1 g organische Bestandteile der dialysierten Hefe	Pro 1 g Eiweiß der Hefe			Gewichtsverteilungsfaktor Hefeeiweiß-Wasser für Sublimat	
				Sublimatstammlösung	Wasser			verschwundene Sublimatmenge	auswaschbare Sublimatmenge			
			g			%g/ccm	g	g	*A*	*B*	*A*	*B*
		5	3,9248	100		5,150		1,077		0,8747		16,99
		1	3,9087	100		5,124	0,1312	1,124	0,8288	0,9217	16,17	17,99
		6	4,3772	75	25	3,749		1,905		1,7027		45,41
1	I	2	9,3068	75	25	3,229	0,09932	1,172	0,9480	0,9697	29,35	30,02
		3	4,9768	50	50	2,418	0,09914	1,207	0,9826	1,0047	40,64	41,54
		7	8,0077	50	50	2,171		0,9071		0,7048		32,47
		4	4,6530	25	75	1,136	0,1063	0,7462	0,5065	0,5439	44,59	47,87
		8	7,5832	25	75	1,012		0,5439		0,3416		33,75
		5	3,9248	100		5,098	0,1319	1,144	0,8459	0,8549	16,59	16,77
10	1	6	4,3772	75	25	3,727	0,1316	1,916	1,6200	1,6269	43,46	43,65
		7	8,0077	50	50	2,113	0,1320	0,9450	0,6472	0,6559	30,63	31,04
		8	7,5832	25	75	0,9489	0,1293	0,5861	0,2944	0,2970	31,03	31,31
	II	1	13,1818	100		3,951		0,5359		0,3336		8,44
	III	1	13,7430	100		3,936	0,08243	0,5007	0,3148	0,2984	8,00	7,58
	II	1a	17,4770	100		3,585		0,5166		0,3143		8,77
	II	2	11,3950	75	25	3,052		0,4292		0,2269		7,43
	III	2	14,0133	75	25	3,009	0,06410	0,3352	0,1906	0,1329	6,33	4,42
	II	2a	11,1563	75	25	2,997		0,4783		0,2760		9,21
	II	3	8,7094	60	40	2,603	0,1346	0,3517	0,0480	0,1494	1,84	5,74
1	II	3a	10,8050	60	40	2,389		0,4039		0,2016		8,44
	III	3	8,9635	50	50	2,075	0,07095	0,3512	0,1911	0,1489	9,21	7,18
	II	4a	10,6323	50	50	1,932		0,3867		0,1844		9,55
	II	4	12,1117	50	50	1,851	0,08575	0,3768	0,1833	0,1745	9,90	9,43
	III	4	10,4165	40	60	1,546	0,05917	0,3085	0,1752	0,1062	11,33	6,87
	II	5a	9,0477	25	75	0,9430		0,2544		0,0521		5,53
	III	5	10,8258	25	75	0,9080	0,07845	0,2224	0,0453	0,0201	4,99	2,21
	II	5	13,4631	25	75	0,8964	0,06446	0,1813	0,0359		4,01	
	II	1a	17,4770	100		3,587	0,1290	0,5167	0,2257	0,2276	6,29	6,35
	II	2a	11,1563	75	25	2,930	0,1151	0,5145	0,2549	0,2254	8,70	7,69
10	II	3a	10,8050	60	40	2.311		0,4445		0,1554		6,73
	II	4a	10,6323	50	50	1,914		0,3970		0,1079		5,64
	II	5a	9,0477	25	75	0,9197		0,2698				

Es besteht nämlich Trockenhefe

aus:	nach den Angaben des Institutes für Gärungsgewerbe [40])	nach Völtz und Baudrexel [41])
Eiweiß	54%	53,44%
Asche	7 »	7,04 »
Fett	3 »	3,12 »
Wasser	8 »	6,87 »
Extraktivstoffe	28 »	28,09 »

Aus diesen Zahlen berechnet sich der perzentuelle Gehalt der organischen Substanz an Eiweiß mit 63,53% bzw. 62,09%.

Unter Zugrundelegung dieser Werte und der Annahme, daß die Bindung des gefundenen Quecksilbers nur an Eiweißkörper erfolgte, was wohl in erster Annäherung erlaubt ist, beträgt der mittlere Wert des Quecksilbergehaltes der Hefeeiweiß-Quecksilberverbindung

nach 1-tägiger Berührung von Hefe und Sublimatlösung

$$14{,}940 \pm 4{,}200\%;$$

nach 10-tägiger Berührung von Hefe uhd Sublimatlösung

$$21{,}355 \pm 1{,}085\%,$$

ergibt somit Werte, die im großen und ganzen als übereinstimmend mit den entsprechenden beim Rinderserumkoagulum bezeichnet werden müssen, besonders wenn man bedenkt, daß diese Zahlen eine mehr approximative Bedeutung haben, da ja einerseits nicht aller Stickstoff der Hefe, aus dem das Eiweiß berechnet wurde, Proteinstickstoff ist, und anderseits auch wahrscheinlich andere organische Substanzen, wenn auch in weitaus geringerem Ausmaße, als die nativen Eiweißkörper. Verbindungen mit dem Quecksilber eingegangen waren.

Die Berechnung der Verteilungsverhältnisse von Sublimat auf Hefe und Wasser wurde konform jener durchgeführt, die bei den Versuchen mit Rinderserumkoagulum angewendet worden war. Die Berechnung ist in Tabelle 9 dargestellt. In jenen Versuchen, in denen sowohl nach 1-tägiger wie nach 10-tägiger Berührungsdauer Probeentnahmen erfolgten, betrug das bei der ersten Probeentnahme entnommene Flüssigkeitsvolumen 20 ccm.

Berechnete man den mittleren Wert des Gewichtsverteilungsfaktors bei den einzelnen Versuchsreihen, so ergab sich, daß derselbe bei den Versuchsreihen II und III ziemlich identisch war, bei der Versuchsreihe I aber nicht unwesentlich höher als bei den zwei anderen (Tabelle 10).

Im übrigen läßt sich das Resultat dieser Versuche dahin zusammenfassen, daß der Gewichtsverteilungsfaktor Hefeeiweiß-Wasser für Sublimat einen hinreichend konstanten Wert ergibt und keine Abhängigkeit von der Konzentration der Endflotte aufweist, wie eine Durchsicht der Stäbe 12 und 13 der Tabelle 9 zeigt. Daher kann man annehmen, daß das in die Hefe übergegangene auswaschbare Sublimat sich in dem letzteren in Form einer echten Lösung befindet, und zwar in demselben Molekül-Aggregatzustand wie im Wasser.

Die Differenz in der Größe der bei den einzelnen Versuchsreihen ermittelten Werte für den Gewichtsverteilungsfaktor Hefeeiweiß-Wasser

Tabelle 10. **Versuche mit Hefe.**

Mittlerer Wert, Variationskoeffizient, mittlerer Fehler der Einzelmessung und des Mittelwertes des Gewichtsverteilungsfaktors Hefeeiweiß-Wasser für Sublimat in den einzelnen Versuchsreihen. *A* und *B* wie in Tabelle 3.

Versuchsreihe	A: Anzahl der Versuche	A: Gewichtsverteilungsfaktor: Mittlerer Wert	A: Variationskoeffizient	A: Mittlerer Fehler d. Einzelmessung	A: Mittlerer Fehler d. Mittelwertes	B: Anzahl der Versuche	B: Gewichtsverteilungsfaktor: Mittlerer Wert	B: Variationskoeffizient	B: Mittlerer Fehler d. Einzelmessung	B: Mittlerer Fehler d. Mittelwertes
I	6	36,638 ± 7,048	19,23%	± 7,048	± 2,877	9	37,340 ± 6,259	16,76%	± 6,259	± 2,086
II	5	6,148 ± 3,307	53,79%	± 3,307	± 1,479	13	7,611 ± 1,485	19,50%	± 1,485	± 0,412
III	5	7,972 ± 3,582	44,92%	± 3,582	± 1,603	5	5,652 ± 2,091	37,00%	± 2,091	± 0,935

Bei der Versuchsreihe Nr. I wurde von den Versuchen 1 und 5, die offenbar zu niedrige Werte ergaben, adgesehen.

dürfte möglicherweise auf dem verschiedenen Alter der verwendeten Hefezellen beruhen. Die Hefezellen der Versuchsreihe I, bei der die höchsten Werte für den Gewichtsverteilungsfaktor gefunden wurden, zeigten äußerst zahlreiche Teilungsvorgänge. Man kann sich nun vorstellen, daß die jungen Hefezellen ein größeres Sublimatlösungsvermögen besitzen als die älteren.

Die Versuche mit Quecksilbercyanid ergaben für den Gewichtsverteilungsfaktor einen sehr konstanten Wert, deren mittlerer Wert

$$1{,}806 \pm 0{,}262 \text{ (Var.-Koeff.} = 14{,}56\%)$$

lautet, so daß man auch hier das Bestehen einer echten Lösung annehmen muß. Der mittlere Fehler der Einzelmessung betrug $\pm$ 0,262, der mittlere Fehler des Mittelwertes $\pm$ 0,131. Eine Protein-Quecksilberverbindung war innerhalb der 10-tägigen Berührungszeit nicht entstanden.

Es wurden vier Versuche mit der Hefe der Versuchsreihe IV angestellt. Gewicht der Hefen betrug 7,3321, 5,9357, 3,9933, 2,6460, die Mengen der zugesetzten Quecksilbercyanidstammlösung (10 ccm = 0,5360 g HgS) 100, 75, 50, 25 ccm. Die Flottenmenge betrug in jedem Versuche 100 ccm. Der Quecksilbercyanidgehalt der Endflotte belief sich in Prozent g/ccm auf 5,443, 4,120, 2,800, 1,416, somit die pro 1 g Hefeeiweiß verschwundene Quecksilbercyanidmenge 0,0798, 0,0789, 0,0488, 0,0295 und der Gewichtsverteilungsfaktor 1,467, 1,914, 1,744, 2,082.

Die Versuche mit der Hefe ergaben somit, wie aus den früheren Versuchen zu erwarten war, daß auch hier zwei Prozesse stattfinden, indem es einerseits zur Bildung von Quecksilber- und Salzsäureverbindungen mit dem Hefeeiweiß kommt, anderseits sich das Sublimat zwischen Hefe und Wasser nach einem konstanten Faktor verteilt, also eine echte Lösungsverteilung eintritt, wobei das Molekulargewicht des verteilten Stoffes in beiden Phasen dasselbe ist. Bezüglich der Reihenfolge dieser Prozesse muß wohl angenommen werden, daß das Primäre die Verteilung des Sublimates nach konstantem Faktor ist, und daß dann sekundär die für die Bindung notwendige Sublimatmenge aus dem im Eiweiß gelösten Sublimat genommen wird. Natürlich muß dann in dem Verhältnis, in dem

das zur Bindung notwendige Salz die Lösungsbeziehung verläßt, entsprechend dem Verteilungsfaktor Sublimat aus der Flotte in das Eiweiß übergehen.

Zu dieser Auffassung stehen die Schlußfolgerungen, die Herzog und Betzel[31]) aus ihren Versuchen mit Hefe und Sublimat ziehen, im Widerspruch. Diese beiden Autoren vertreten bekanntlich die Ansicht, daß Sublimat von Hefe zunächst in Form eines reversiblen Adsorptionsprozesses aufgenommen wird. Sie bestimmten in ihren Versuchen nur den Sublimatgehalt der Ausgangs- und Endflotte nach der Titrationsmethode von Rupp, unterließen es somit, sich über die Frage des Bestehens chemischer Verbindungen zwischen dem aus der Flotte verschwundenen Sublimat bzw. dessen Atomen und dem Eiweiß der Hefe durch Analyse der gewaschenen Hefe zu orientieren. Die Berührungsdauer von Hefe und Sublimatlösung ist in der Arbeit nicht angegeben. Nehmen wir auch an, daß dieselbe ganz kurzfristig war — etwa ¼ Stunde — so waren doch sicherlich bereits schon Quecksilber- und Salzsäureverbindungen mit dem Eiweiß der Hefe entstanden, wie man aus der guten Übereinstimmung der vorliegenden Hefe- und Rinderserumkoagulumversuche schließen kann. Bei letzteren wurde bei so kurzfristigen Berührungszeiten schon das Bestreben der Proteinquecksilberverbindungen festgestellt.

Herzog und Betzel nehmen die ganze aus der Flotte verschwundene Sublimatmenge als adsorbiert an und berechnen nach diesem Gesichtspunkt ihre Versuche, was aber nach den Resultaten der vorliegenden Untersuchungen als nicht mehr zutreffend bezeichnet werden muß. Damit wird natürlich auch die Annahme, die diese beiden Autoren über die physikalischen Beziehungen zwischen Hefe und Sublimat machen, hinfällig.

Eine nachträgliche Berechnung ihrer Versuche unter Zugrundelegung der hier erhobenen Werte über die Bindungsgröße der Quecksilberverbindung, läßt sich nicht durchführen, da die Berührungsdauer nicht bekannt ist.

III. Desinfektionsversuche mit Sublimat.

Die folgenden Desinfektionsversuche sollten die in der Literatur vorhandenen Angaben über die Desinfektionskraft des Sublimates namentlich bezüglich der noch weniger bearbeiteten Frage der Desinfektionswirkung gegenüber vegetativen Formen (Staphylokokken) ergänzen. Die Versuche wurden teils genau nach der Methodik Ottolenghis, teils nach einer bereits an anderer Stelle[10]) beschriebenen eigenen Versuchsanordnung ausgeführt. Bei letzterer werden die Testkeime vor dem Übertragen in das Nährmedium zentrifugiert und durch Dekantation gewaschen, um die anhaftenden Sublimatspuren und wenigstens den Großteil der absorbierten Sublimatmenge zu entfernen.

Zur Bereitung der Suspensionen wurden beimpfte Schrägagarröhrchen bei Milzbrand 14 Tage, bei Staphylokokken 2 Tage im Brutschrank belassen, hernach die Rasen jedes Röhrchens mit 4 ccm sterilen destillierten Wassers abgespült, die erhaltenen Suspensionen durch sterile Leinwandfilter in dickwandige mit sterilen Glasperlen versehenen Glasflaschen filtriert. Hierauf wurden die Flaschen mit sterilisierten Korkstopfen verschlossen und 5 Minuten geschüttelt. Die Milzbrandsporensuspensionen wurden außerdem ½ Stunde bei 65° C pasteu-

risiert. Für jede Überimpfungszeit wurden 10 ccm Suspension in sterile Röhrchen abgefüllt und die gleiche Menge des doppelt konzentrierten Desinfektionsmittels zugesetzt und sodann die Röhrchen in einen auf 20°—22° C eingestellten Vegetationsschrank aufbewahrt. Aus diesen Röhrchen wurde zu bestimmten Zeiten je 1 ccm des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel entnommen. Die weitere Behandlung dieses Gemisches war verschieden. Bei den Versuchen nach der Methodik Ottolenghis wurde dasselbe in Röhrchen mit 10 ccm Bouillon übertragen, sodann zu den Röhrchen wässrige Schwefelwasserstofflösung und nach Ablauf von 1/4 Stunde 10 ccm pasteurisiertes Rinderblutserum zugesetzt und diese Proben 14 Tage lang im Brutschrank kultiviert. Die zugesetzte Menge der Schwefelwasserstofflösung war verschieden je nach dem Sublimatgehalt des überimpften Gemisches. Lag derselbe zwischen 0,01 und 0,5%, so wurden 1 ccm, bei höheren Konzentrationen 2 ccm einer frisch bereiteten n/5 Schwefelwasserstofflösung, deren Schwefelwasserstoffgehalt durch Titration mit $n/_{10}$ Jodlösung kontrolliert war, hinzugefügt. Behufs Neutralisation der durch den Zusatz des Schwefelwasserstoffs aus dem mitübertragenen Sublimat entstehenden Salzsäure ($HgCl_2 + SH_2 = HgS + 2\ HCl$) war den Bouillonröhrchen sterilisierte Krystallsodalösung zugesetzt worden. Die Menge der zugesetzten Krystallsodalösung wurde natürlich entsprechend der mitübertragenen Sublimatmenge abgestuft. Es wurden bei der Übertragung von 1 ccm eines Gemisches, das eine 3-proz. Sublimatlösung darstellte, 3 ccm einer 1-proz. Krystallsodalösung, bei der Übertragung von 1 ccm eines Gemisches, das eine 2-proz. Sublimatlösung darstellte, 2 ccm einer 1-proz. Krystallsodalösung usw. angewendet.

Bei den Versuchen mit Zentrifugieren und Waschen der Keime wurde der eine ccm des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel in ein Zentrifugenglas übertragen, 50 ccm steriles destilliertes Wasser zugesetzt und 1/2 Stunde zentrifugiert. Hernach wurde das über den abzentrifugierten Keimen befindliche Wasser in raschen Gusse entfernt, nochmals 50 ccm steriles destilliertes Wasser zugesetzt und wieder 1/2 Stunde zentrifugiert. Das Zentrifugieren wurde gewöhnlich noch ein drittesmal wiederholt. Nur bei den Versuchen mit kurzfristiger Desinfektionszeit (5 Minuten bis 2 Stunden) begnügte man sich mit einem einmaligen Zentrifugieren. Die nach dem letzten Zentrifugieren und Abgießen des Dekantationswassers im Zentrifugenglas verbliebenen Keime wurden in 1 ccm Wasser suspendiert und in raschem Gusse in ein Röhrchen mit einem Gemisch von 10 ccm Bouillon und 10 ccm pasteurisiertem Rinderserum übergeleert und die Proben 14 Tage im Brutschrank bebrütet. Das Zentrifugieren erfolgte auf einer elektrischen Zentrifuge. Zur Feststellung der durch diese Versuchsanordnung schließlich in das Kulturmedium überimpften Keimmenge wurde bei jedem Versuche 1/2 ccm der Suspension (entsprechend 1 ccm des Gemisches) in derselben Weise wie das Gemisch Suspension-Desinfektionsmittel behandelt und die Menge der in das Nährmedium übertragenen Keime bestimmt.

Am 2., 4., 8. und 14. Tage wurde von jeder im Brutschrank befindlichen Kulturprobe eine Normalöse auf Agar ausgestrichen. Bei Milzbrand wurde das Wachstum an dem Aufgehen typischer Milzbrandkolonien konstatiert, bei den Staphylokokken durch die mikroskopische Untersuchung des aufgegangenen Rasens mittels eines Grammpräparates. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wurde Wachstum am 2. und 4. Tage beobachtet, im Rest am 8. Tage; am 14. Tage niemals.

Die Keimzahl der verwendeten Suspension und bei den Versuchen mit Zentrifugieren die schließlich übertragene Keimmenge wurde durch Einsaat von 1 ccm einer 10^5-, 10^6-, 10^7-fachen Verdünnung der Suspension bzw. in letzterem Falle der in einem ccm suspendierten Menge der abzentrifugierten Keime in flüssigen Agar von 42° C, Ausgießen desselben in Petrischalen und Zählen der aufgegangenen Keime nach 18-stündiger Bebrütung bestimmt. Die Dampfresistenz der verwendeten Milzbrandsporen wurde in üblicher Weise mit Sporenseidenfäden im Ohlmüllerschen Apparate festgestellt. Die Kultur wurde sowohl in Bouillon, wie gemäß der Angaben von Süpfle und Dengler[52]) in 3-proz. Traubenzuckerbouillon mit 5% Pferdeserumzusatz vorgenommen.

Die Phenolresistenz der verwendeten Staphylokokken wurde in jedem Versuche durch einen Desinfektionsversuch nach der Suspensionsmethode ermittelt.

Von dem Gemisch Suspension-Desinfektionsmittel wurden nach den gewünschten Einwirkungszeiten eine Öse in das Kulturmedium übertragen, das hier ebenfalls nach Süpfle und Dengler 3-proz. Traubenzuckerbouillon war. Die bei diesen Desinfektionsversuchen mit Phenol übertragene Keimzahl wurde aus der Keimzahl der Suspension und aus dem festgestellten Gewicht der durch die Öse übertragenen Menge des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel berechnet. Die Bestimmung dieses Gewichtes erfolgte in der Weise, daß das Gewicht eines Gefäßes, in dem sich dieses Gemisch befand, vor und nach der Herausnahme von je 10 Ösen bestimmt wurde.

Der Sublimatgehalt der verwendeten Desinfektionslösungen wurde durch die gravimetrische Bestimmung des Quecksilbers als Sulfid, der Phenolgehalt mittels der Koppescharschen Titrationsmethode bestimmt.

Die Konzentrationsangaben sind als Gramme in 100 ccm Desinfektionslösung zu verstehen.

Die hier beschriebene Methodik erfuhr bei den Versuchen mit Milzbrandsporen insoferne eine Abänderung, als bei diesen als Nährmedium Albuminbouillon (0,1 g Albumin auf 10 ccm Bouillon) genommen wurde.

Die verwendete Bouillon war nach der gegenwärtig im hygienischen Institute üblichen Bereitungsweise — Ersetzen des Fleisches durch Plazenta — hergestellt worden.

Mit sechs verschiedenen Suspensionen wurden die Versuche von Süpfle und Dengler bezüglich der Resistenz der Staphylokokken gegenüber 1-proz. Phenollösung nachgeprüft und eine vollständige Bestätigung ihrer Angaben gefunden. Bei einem dieser Versuche wurde die Lebensdauer der verwendeten Staphylokokken in der Suspension bestimmt. Nach 70 Tagen ergaben die Keime bei Übertragung in 3-proz. Traubenzuckerbouillon noch Wachstum, nach 80 Tagen kein Wachstum mehr.

1. Versuche nach der Methodik Ottolenghis.

Der erste Versuch dieser Methodik stellte eine Ergänzung der seinerzeit von mir ausgeführten dar[10]). Damals wurde gefunden, daß bei Verwendung von Albuminbouillon als Kulturmedium noch nach 100-tägiger Einwirkung von 0,01—1,00-proz. Sublimatlösungen auf Milzbrandsporen sich Wachstum feststellen ließ. Erst 2-proz. Sublimatlösungen bewirkten in derselben Zeit Abtötung. Da der Versuch nach 100 Tagen abgeschlossen wurde, war die obere Grenze der Anwachsungszeit und niederste sichere

Tabelle 11. **Versuche nach der Methodik Ottolenghis.**

Wirkung von Sublimat auf Milzbrandsporen. Dampfresistenz der Milzbrandsporen: 3 Minuten (Bouillon), 5 Minuten (3% Traubenzuckerbouillon mit 5% Pferdeserum). Überimpfte Keimzahl: 2,4 Millionen. Temperatur: 20° C.

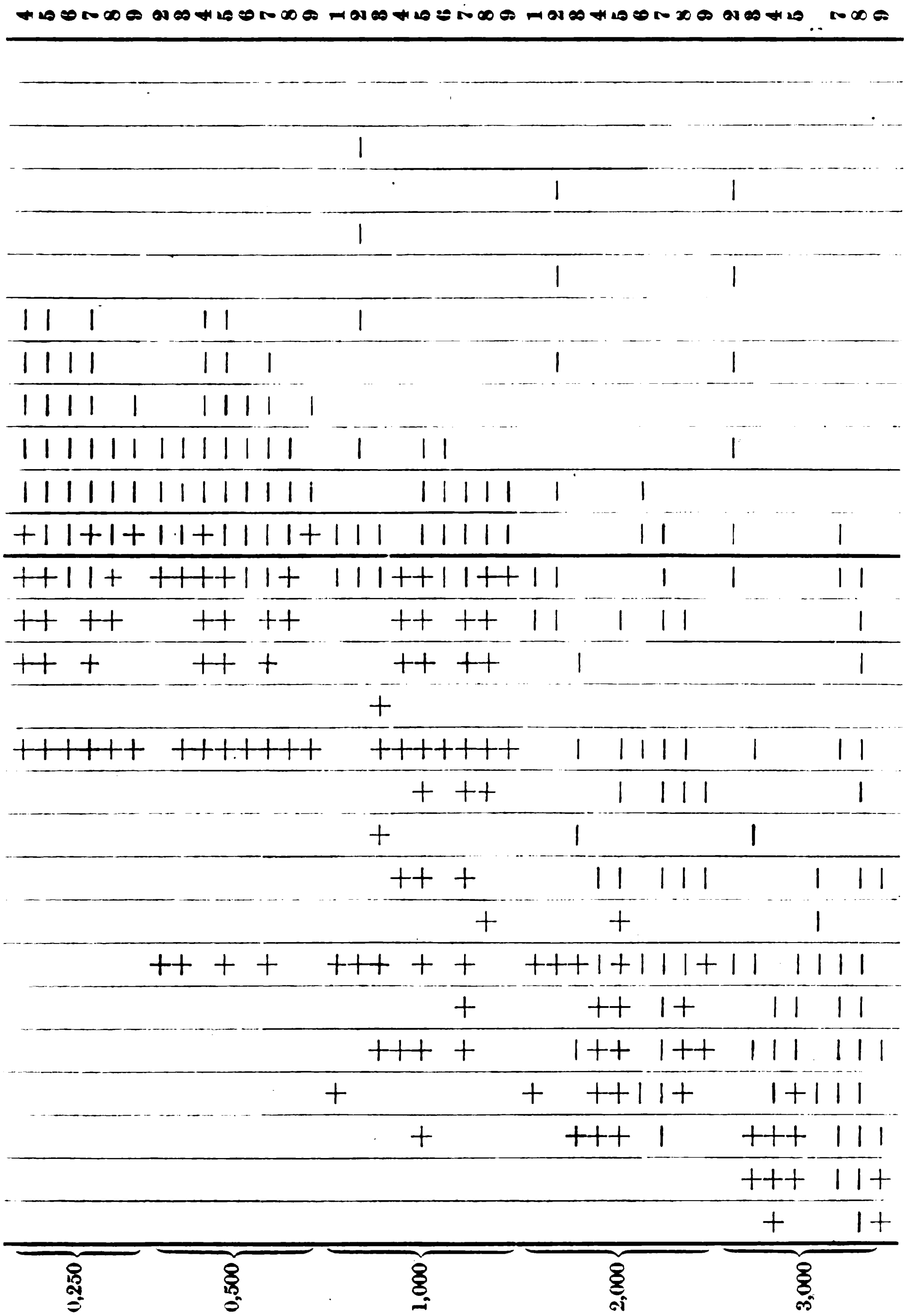
Konzentration des Sublimates in %	Tage																	
	10	20	40	50	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105	110	115	120	125
0,01	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
0,05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
0,10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
0,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
1,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
2,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−		−	−
3,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−		−	−
Kontrolle	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle 12.

Versuche nach der Methodik Ottolenghis. Wirkung von Sublimat auf Staphylokokken. Temperatur: 20° C.

	Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Überimpfte Keimzahl in Millionen		150	180	150	230	80	167	20	23	15
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung	Höchste Anwachsungszeit in Minuten	180	200	180	100	80	160	20	80	100
	Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten	360	220	360	120	100	180	40	100	120
	Überimpfte Keimzahl in Millionen	1,2	1,3	1,1	1,8	0,6	1,3	0,2	0,2	0,1

Konzentration d. Sublimates in %	Stunden ½	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	16	20	24	Tage 2	3	4	5	6	8	10	12	14	16	20	24	Versuch Nr.
0,010				+			+									+	+												1
							+									+	+		+			+		—		—	—	—	2
																			+		+	+	+	—	—	—	—	—	3
												+		+	+		+	+	+	+	+	+	—	—					5
0,025												+		+	+	+	+		+	—	—	—	—						6
																+	+		+		—								7
																+	+	+	+		—								8
																+	+		+	+	+	—	—						9
0,050							+																						2
																		+											3
												+		+	+	+	+	+	+	—	—	—							4
												+		+	+	+	+	—	—	—	—	—							5
												+		+	+	+	+	+	—	—	—								7
															+	+	+	—	—										8
																	+	+	+		—								9
0,100				+			+									+	—												1
							+									+	—		—			—		—		—			2
												+				+	—	—	—		—								3
												+		+	+	+	+	+	—	—	—	—							4
												+		+	+	—	—	—	—	—	—	—							5
												+				—	—	—	—	—	—	—							6
												+		+	+	+	+	+	—	—	—	—							7
												+			+	+	—	—	—										8
												+				+	+		—										9


0,250
0,500
1,000
2,000
3,000

Abtötungszeit nicht bestimmt worden. Der vorliegende Versuch ergab nun eine sichere Abtötung in dem Konzentrationsbereich von 3,00—0,05% nach 100 Tagen, so daß man mit Berücksichtigung des früheren Versuches sagen kann, daß die niederste sichere Abtötungszeit für diese Konzentrationen 105 Tage ist. Sublimatlösungen von einer Konzentration von 0,01% töteten erst nach 115 Tagen (Tabelle 11). Die Versuche mit Staphylokokken (Tabelle 12) ergaben bei niederen Konzentrationen (unter 0,1% $HgCl_2$) eine höhere Resistenz dieser Keime, als nach den Versuchsergebnissen jener Autoren zu erwarten war, die nach derselben Methodik arbeiteten. Bei den höheren Konzentrationen übertreffen die Versuchsresultate Ottolenghis bei 2,712% die vorliegenden Feststellungen bezüglich der Abtötungszeit. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Milzbrandsporen ist hier eine deutliche Abhängigkeit der Abtötungszeiten von der Konzentration vorhanden, wie aus der Tabelle 13, die nur die höchsten bei den einzelnen Konzentrationen erhaltenen Werte berücksichtigt, zu ersehen ist.

Tabelle 13. Versuche nach der Methodik Ottolenghis.
Wirkung von Sublimat auf Staphylokokken. Niederste sichere Abtötungszeit und höchste Anwachsungszeit nach Literaturangaben und nach eigenen Versuchen.

$HgCl_2$ %	Stunden							Tage									nach
	3	4	6	7	8	8½	9	1	2	3	4	5	6	8	10	12	
0,01															+	—	eigene Versuche
0,01356							+	—									Ottolenghi
																	Croner u. Naumann
0,025														+			eigene Versuche
0,027																	Ottolenghi
									+								Croner u. Naumann
0,05											+						eigene Versuche
0,10										+							eigene Versuche
0,1356						—											Ottolenghi
										+							Croner u. Naumann
0,25										+							eigene Versuche
0,50									+								eigene Versuche
0,54																	Ottolenghi
								+									Croner u. Naumann
1,00			—														Steiger und Döll
								—									eigene Versuche
1,356	—																Croner u. Naumann
2,00					—												eigene Versuche
2,712						+											Ottolenghi
	+																Croner u. Naumann
3,000	+																eigene Versuche

2. Versuche mit Waschen der Keime.

Diese Versuche wurden nur mit Staphylokokken als Testmaterial ausgeführt.

Zunächst wurde zur Ermittlung eines geeigneten Nährbodens für die Nachkultur ein Entwicklungshemmungsversuch angestellt. Derselbe er-

gab wie bei den Entwicklungshemmungsversuchen mit Milzbrandsporen die Überlegenheit des Serums und der Serumbouillon über die gewöhnliche Bouillon. Das Wachstum konnte in allen Fällen schon nach 2—4tägiger Bebrütung konstatiert werden.

Als sicher entwicklungshemmend bei Brutschranktemperatur und 14-tägiger Beobachtungszeit erwiesen sich:

	für Staphylokokken (vorliegender Versuch)	für Milzbrandsporen Lit. Nr. 10
in Bouillon die Konzentration	1:20000	1: 8000
» Agar » »		1:10000
» Serumbouillon die Konzentration .	1: 8000	1: 4000
» Serumagar » » . .		1: 2000
» Blutserum » » . .	1: 8000	1: 2000
» Albuminbouillon » » . .		1: 6000

Staphylokokken waren also etwas weniger widerstandsfähig gegen entwicklungshemmende Einflüsse als Milzbrandsporen, allerdings nicht in dem Maße wie nach den Versuchen von Fermi [53]), der als sicher entwicklungshemmend für diese Keime bei Verwendung von Glyzerinagar schon die Konzentration 1:510000 fand, zu erwarten war.

Nach den Resultaten dieser Untersuchungen wurde dann für die vorliegenden Versuche Serumbouillon als Nährmedium genommen.

Die Ergebnisse dieser Versuche, die in Tabelle 14 dargestellt sind, übertreffen bezüglich der festgestellten höchsten Anwachsungszeiten weitaus jene der älteren Autoren, die ebenfalls die desinfizierten Keime vor der Übertragung in das Nährmedium wuschen.

Wachstum wurde nämlich noch erzielt:

nach 1-stündiger Einwirkungsdauer einer 2,00-proz.,
» 2-stündiger » » 1,00-proz., 0,50-proz., 0,25-proz., 0,10-proz., 0,05-proz.,
» 12-stündiger » » 0,01-proz. Sublimatlösung
auf Staphylokokken.

Die überimpfte Keimzahl war im Vergleich zu den früheren Versuchen gering (3,2 bis 6,4 Millionen).

IV. Die Bewertung der Desinfektionsversuche mit Sublimat.

Wie in der Einleitung ausgeführt wurde, ist gegen die Anwendung von Schwefelwasserstoff bzw. Sulfiden zur Nachbehandlung bei Desinfektionsversuchen mit Sublimat der Einwand erhoben worden, daß durch diese Methodik eine wenigstens für einen Teil der in der Praxis vorkommenden Fälle irreversible Zustandsänderung reversibel gemacht werde. Da nun die im zweiten Abschnitte besprochenen Versuche gezeigt hatten, daß bei der Einwirkung von Sublimat auf Mikroorganismen Quecksilberverbindungen mit den Stoffen der Keime, namentlich mit den Proteinen entstehen, so ergab sich, daß tatsächlich dieser Einwand zu Recht besteht, falls eben diese Verbindung durch Schwefelwasserstoff bzw. Sulfide gesprengt werden kann.

Tabelle 14. Versuche mit Waschen der Keime.

Wirkung von Sublimat auf Staphylokokken. Ein- bis dreimaliges Zentrifugieren und Dekantieren. Temperatur: 20° C.

	Versuch Nr. 1	2	3
Keimzahl von 1 ccm des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel	400	400	800 Mill.
In den Nährboden überimpfte Keimzahl	38	40	75 Mill.
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-prozentige Phenollösung: Höchste Anwachsungszeit	40	60	80 Min.
Niederste sichere Abtötungszeit	60	80	100 Min.
Überimpfte Keimzahl	3,2	3,2	6,4 Mill.

Konzentration des Sublimates in %	Stunden ½	1	2	3	4	6	8	12	24	Versuch Nr.
0,01		+	+	+		+		+	—	1
	+	+	—	—						2
		+	+	+	+		+			3
0,05		+	—	—	—	—				1
	+	+	—	—						2
	+	+	+	—	—		—			3
0,10		+	—	—		—				1
	+	+	—	—						2
	+	+	+	—	—		—			3
0,25	+	+	+	—	—		—			3
0,50		+	—	—		—				1
	+	+	+	—	—		—			2
	+	+	—	—		—				3
1,00		—	—	—		—				1
	+	+	+	—	—		—			2
	+	—	—	—	—		—			3
2,00	+	+	—	—	—		—			2

Letztere Annahme erschien von vornherein als gegeben, wurde aber außerdem noch durch die folgende Versuchsreihe gestützt, durch die auch gleichzeitig bewiesen werden sollte, daß das nach dem Verteilungsfaktor übergegangene Sublimat durch Schwefelwasserstoff ausgefällt wird.

In den Einzelversuchen 3 und 6 der Versuchsreihe VI bestand die eingewogene Koagulummenge aus je zwei Teilstücken. Die Summe der Gewichte dieser beiden Stücke ergab das in Tabelle 3 angegebene Gewicht der eingewogenen Koagulummenge. Nach 24-stündiger Berührung der Koagulumstückchen mit der Sublimatlösung wurde der Quecksilbergehalt der Flotte bestimmt und daraus die in das Eiweiß der beiden Koagulumstückchen übergegangene Sublimatmenge berechnet. Nun wurde je ein Koagulumstückchen jedes Einzelversuches in fließendem Hochquellenwasser solange gewaschen, bis es mit 50 ccm Wasser versetzt auch nach 12-stündiger Berührung kein Quecksilber mehr abgab und dann dessen Wasser- und Quecksilbergehalt bestimmt. Die zweiten Stücke jedes Einzelversuches wurden nach dem Herausnehmen aus der Sublimatlösung gewogen, um die imbibierte und anhaftende Flotte zu bestimmen, dann in Wasser gegeben und in dieses Schwefelwasserstoffgas eingeleitet. Nach 24-stündigem Verweilen in Schwefelwasserstoffwasser wurden die inzwischen schwarz gewordenen Stücke herausgenommen und durchgeschnitten. Die Schnitt-

fläche war durchgehends schwarz. Hernach wurden die Stücke 8 Tage in fließendem Hochquellenwasser gewaschen und der Quecksilbergehalt der gewaschenen Stücke bestimmt. Die Berechnung dieser Versuche erfolgte analog der in Tabelle 2 dargestellten.

Die in diesen beiden Koagulumstückchen gefundenen Quecksilbermengen zeigten eine leidlich gute Übereinstimmung mit jenen, die sich nach der Berechnung als die Summe der in das Eiweiß des Koagulums übergegangenen und der in der imbibierten und anhaftenden Flotte enthaltenen ergaben. Wie bereits früher erwähnt, sind Abweichungen von der Größe der vorliegenden (3,14 bis 2,18%) durch unvermeidliche Beobachtungsfehler hinreichend erklärt (Tabelle 15).

Tabelle 15. **Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.**

Quecksilbergehalt von Koagulumstückchen, die nach 24-stündiger Berührung mit verschieden konzentrierten Sublimatlösungen auf 24 Stunden in schwefelwasserstoffhältiges Wasser gebracht und dann 8 Tage in fließendem Hochquellenwasser gewaschen wurden.

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Gewicht des			Im Koagulum imbibierte und an ihm anhaft. Flotte			Quecksilbergehalt d. anal. Koagulums		Perzent. Abweich. zwischen dem gefundenen u. berech. Quecksilbergehalt
		Ausgangs-koagulums g	analysierten Koagulums g	im analysierten Koagulum gefund. HgS g	Gewicht g	Volumen ccm	Quecksilbergehalt g	gefunden	berechnet 1)	
VI	3	9,8950	10,5500	0,3814	9,3119	9,256	0,0598	0,3288	0,3394	3,14
	6	22,2717	23,7450	1,0780	20,9023	20,71	0,1946	0,9293	0,9502	2,18

Das Resultat dieser Versuche zeigte daher, daß die nach dem Verteilungsfaktor in das Eiweiß des Koagulums übergegangene Sublimatmenge als unlösliches Quecksilbersulfid ausgefällt worden war. Denn wäre es nur zur Ausfällung des in der imbibierten und anhaftenden Flotte enthaltenen Sublimates gekommen, aber nicht des im Eiweiß gelösten, so hätte letzteres bei dem nachfolgenden Waschen entfernt werden müssen, was eine bedeutende Differenz zwischen dem gefundenen und berechneten Quecksilbergehalt ergeben hätte, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

Versuchsreihe	Versuch Nr.	Quecksilbergehalt der imbibierten und anhaftenden Flotte	An das Eiweiß des Koagulums gebund. Quecksilbermenge	Summe	Gefundene Quecksilbermenge
		g	g	g	g
VI	3	0,0598	0,1193	0,1791	0,3288
	6	0,1946	0,3314	0,5260	0,9293

1) Dieser Wert ist die Summe der in das Eiweiß übergegangenen und der in der imbibierten und anhaftenden Flotte enthaltenen Quecksilbermenge.

Die Abweichung der beiden Werte hätte in diesem Falle 45,53% bzw. 43,40% betragen. Wie aus den Versuchen hervorgeht, wird das ausgefällte Quecksilbersulfid nicht ausgewaschen, sondern offenbar in den Maschen des Koagulums zurückgehalten.

Über die Beziehungen zwischen Schwefelwasserstoff und dem an das Eiweiß des Koagulums gebundenen Quecksilber war aus den vorherigen Versuchen nichts zu schließen. Zur Klarstellung dieser Frage wurden die zwei folgenden Versuche angestellt.

Bei Versuchsreihe Va wurden die Koagulumstückchen, die nach 24-stündiger Berührung mit verschieden konzentrierten Sublimatlösungen in fließendem Hochquellenwasser solange gewaschen wurden, bis sie mit 50 ccm Wasser versetzt an dieses auch nach 12-stündiger Berührung kein Quecksilber mehr abgaben, in zwei Partien geteilt. In der ersten Partie wurde der Wasser- und Quecksilbergehalt bestimmt. Die zweite Partie wurde in Wasser gegeben und in dieses Schwefelwasserstoffgas eingeleitet. Allmählich wurden die Stücke schwarz. Nach 24-stündigem Verweilen in dem schwefelwasserstoffhältigen Wasser nahm man die Stücke heraus und durchschnitt sie, wobei sich zeigte, daß die Schnittfläche durchgehends schwarz war. Die Stücke wurden dann 8 Tage in fließendem Hochquellenwasser gewaschen und der Quecksilber- und Wassergehalt der gewaschenen Stücke bestimmt.

Das Schwarzwerden der Stücke der zweiten Partie, das beim Liegen in schwefelwasserstoffhaltigem Wasser eintrat, läßt sich wohl nur so deuten, daß der Schwefelwasserstoff die Verbindung Protein-Quecksilber sprengt und unlösliches Quecksilbersulfid sich ausscheidet, das dann, wie aus der weitgehenden Übereinstimmung der auf 1 g Eiweiß des gewaschenen Koagulums entfallenden Quecksilbermengen beider Partien hervorgeht, ebensowenig aus den Maschen des Koagulums sich auswaschen läßt, wie das Quecksilbersulfid, das aus dem in der imbibierten und anhaftenden Flotte enthaltenen und dem im Eiweiß gelösten Sublimat ausgefällt wurde (Tabelle 16).

Zu den gleichen Ergebnissen führten die Versuche mit Hefe.

Da also anzunehmen ist, daß durch die Einwirkung von Schwefelwasserstoff bzw. Sulfiden Verbindungen zwischen dem Quecksilber und bestimmten Leibessubstanzen der Keime unter Bildung unlöslichen Quecksilbersulfides gesprengt werden, so sind entsprechend der Fragestellung die Methodik der Prüfung dieses Desinfektionsmittels auszuwählen bzw. die nach einer Methodik erhaltenen Resultate zu beurteilen.

So charakterisieren uns die Resultate der Versuche mit bloßem Waschen der Keime vor der Übertragung in das Nährmedium die Desinfektionskraft des Sublimates nur jenen Objekten gegenüber, in denen es zu keiner Bildung von Schwefelwasserstoff und Sulfiden kommt, bzw., die nicht später mit diesen Stoffen in Berührung kommen. Dies wäre im allgemeinen bei der chirurgischen und Händedesinfektion, ferner bei der Desinfektion von Wänden, Fußböden und Einrichtungsgegenständen in Wohnungen der Fall. Handelt es sich jedoch um die Desinfektion von Abfallstoffen, Abwässern, Weichwässern von Gerbereien, Harn und Stuhl, Sputum oder Objekten, die später in Abwässer ge-

Tabelle 16. **Versuche mit feuchtem Rinderserumkoagulum.**

Quecksilbergehalt von Koagulumstückchen, die nach 24-stündiger Berührung mit verschieden konzentrierten Sublimatlösungen in fließendem Hochquellenwasser solange gewaschen wurden, bis sie, mit 50 ccm Wasser versetzt, an dieses auch nach 12-stündiger Berührung kein Quecksilber mehr abgaben, dann in zwei Partien geteilt wurden und in der ersten Partie (A) sofort der Quecksilber- und Wassergehalt, in der zweiten (B) nach vorhergehendem 24-stündigem Einlegen in schwefelwasserstoffhaltigem Wasser und neuerlichem 8-tägigem Waschen bestimmt wurde.

	Versuchsreihe	Versuch Nr.	Wasserbestimmung		Quecksilberbestimmung		Gewaschenes Koagulum		Quecksilbergehalt von 1 g Eiweiß des gewaschenen Coagulums
			Gewicht des		Gewicht des				
			feuchten Koagulums g	getrockn. Koagulums g	feuchten Koagulums g	HgS g	Eiweißgewicht g	Gewicht des gefundenen Quecksilbers g	
A	IIa	1a	1,8809	0,3713	3,2933	0,0762	0,6501	0,06570	0,1011
A	IIa	2a	2,1096	0,3753	3,4585	0,0635	0,6155	0,05480	0,08890
B	IIa	1b	3,7568	0,5735	2,9412	0,0620	0,4490	0,05350	0,1191
B	IIa	2b	4,1532	0,6885	3,3534	0,0640	0,5559	0,05552	0,09927

langen oder gelangen können, so geben uns die Versuche, die die desinfizierten Keime mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden behandeln, ein richtiges Bild über die desinfizierende Wirkung des Sublimates gegenüber solchen Objekten.

V. Die Theorie der Desinfektionswirkung des Sublimates.

Die vorliegenden Versuche haben einerseits die chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Sublimat und Mikroorganismen anderseits die Wirksamkeit dieses Stoffes gegen zwei Vertreter verschiedener Typen von Mikroorganismen (Milzbrandsporen und Staphylokokken) unter verschiedenen Bedingungen festgelegt. Es erschien somit die entsprechende Grundlage gegeben, um die Ursache der desinfizierenden Kraft des Sublimates erörtern zu können.

Bei der Berührung von Mikroorganismen und Sublimat spielen sich, wie nachgewiesen wurde, drei Vorgänge ab; die Verteilung des Sublimates zwischen Keimen und Wasser nach konstantem Faktor, die Entstehung von Quecksilber- und die Entstehung von Säureverbindungen mit den organischen Stoffen der Keime, die alle drei nach unseren heutigen Vorstellungen als desinfizierend gedacht werden dürfen. Das Interesse muß sich also zunächst der Frage zuwenden, ob jeder dieser drei Prozesse im vorliegenden Falle auch wirklich Keime abzutöten vermag. Verteilungsgleichgewichte können durch die hemmende Wirkung des im Protoplasma gelösten Stoffes auf lebenswichtige Funktionen, durch Verdrängung des Quellungswassers des Eiweißes und durch Eiweißkoagulation Abtötung bedingen. Chemische Bindungen können natürlich schon an und für sich durch Ausschaltung der Funktionen der an sie gebundenen Stoffe maßgebend für den

Zelltod sein, oder wie wahrscheinlich bei den Proteinsalzsäureverbindungen durch hydrolytische Aufspaltung des gebundenen Eiweißes zelltötend wirken.

Die vorliegenden Versuche erbringen den Beweis für die abtötende Wirkung der Verbindung des Quecksilbers mit den Eiweißkörpern der Keime.

Bei den Versuchen nach der Methodik Ottolenghis wird, wie in dem vorhergehenden Abschnitte ausgeführt wurde, nicht nur das nach dem Lösungsgleichgewichte in die Keime übergegangene Sublimat

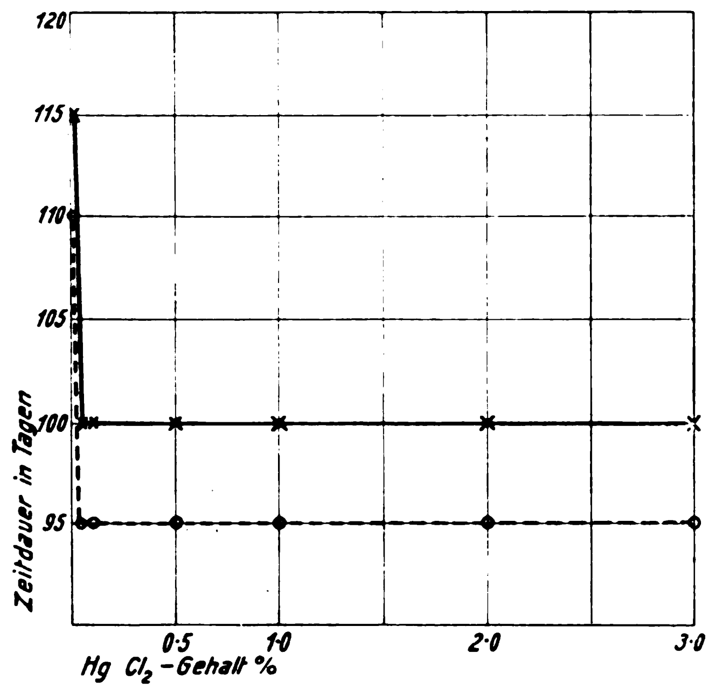


Fig. 2. **Versuche nach der Methodik Ottolenghis**
Wirkung von Sublimat auf Milzbrandsporen.
×———————× niederste sichere Abtötungszeit.
○ — — — — — ○ höchste Anwachsungszeit.
(Versuche aus Tabelle 11.)

ausgefällt, sondern auch die Quecksilberverbindung gesprengt, wodurch die Stoffe der Keime, die an das Quecksilber gebunden waren, wieder funktionsfähig werden können, sofern sie nicht ihre Funktionsfähigkeit durch die Dauer der Bindung eingebüßt haben. Bei den Waschversuchen werden nur die Hauptmenge des gelösten Sublimates und die bloß anhaftenden Sublimatspuren entfernt. Aus dem Umstande nun, daß bei den nach der ersteren Methodik angestellten Versuchen sowohl bei Staphylokokken wie bei Milzbrandsporen als Testkeime weit höhere Anwachsungszeiten erzielt wurden, als bei den nach der letzteren

Methodik ausgeführten, geht hervor, daß das Bestehen dieser Bindung ein Absterben der Keime bedingt.

Die Frage, ob auch die im Protoplasma gelöste Sublimatmenge eine desinfizierende Wirkung entfaltet, muß nach den vorliegenden

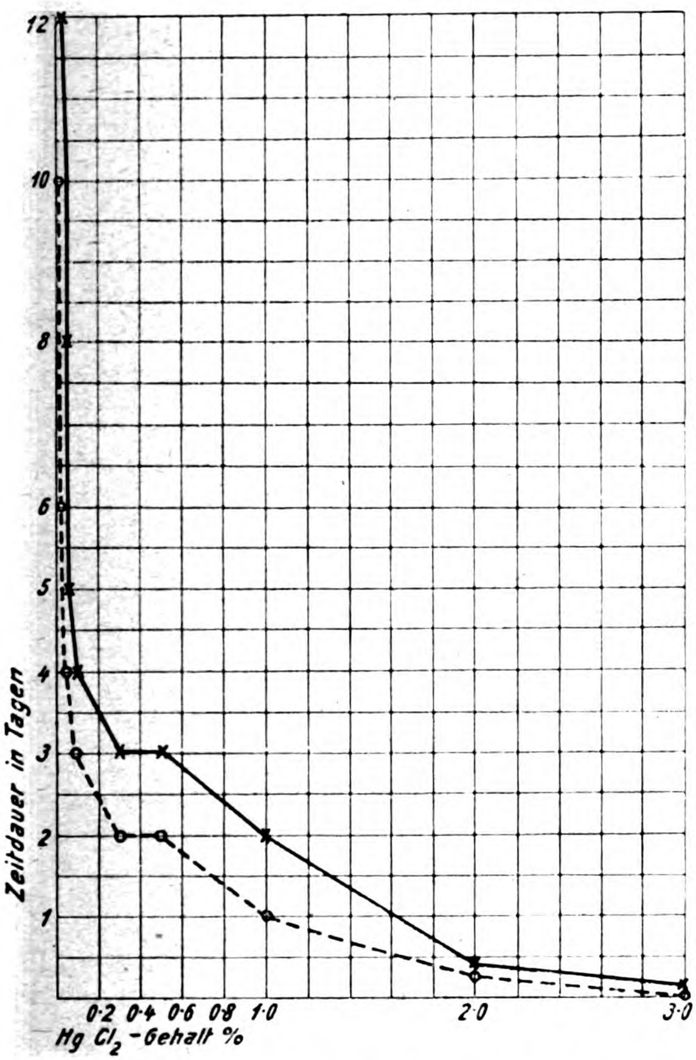


Fig. 3. **Versuche nach der Methodik Ottolenghis.**

Wirkung von Sublimat auf Staphylokokken.

×——————× niederste sichere Abtötungszeit.

o – – – – – – o höchste Anwachsungszeit.

(Versuche aus Tabelle 12.)

Versuchen für Milzbrandsporen verneint, für Staphylokokken aber bejaht werden. Es hat sich nämlich bei den nach der Methodik Ottolenghis angestellten Desinfektionsversuchen gezeigt, daß eine

ersichtliche Abhängigkeit der Abtötungszeit von der Konzentration der Desinfektionsflüssigkeit bei Staphylokokken besteht (Tabelle 12 u. 13) bei Milzbrandsporen aber nicht. Eine solche Abhängigkeit ist nicht denkbar, wenn nur Bindungen eine Desinfektionswirkung ausüben würden, da ja nach dem Begriff von Prozessen stöchiometrischer Natur die Bindungsgröße unabhängig von dem Gehalt der Flotte an Desinfiziens im gleichen Zeitpunkt nach erreichtem Gleichgewicht immer den gleichen Wert haben muß. Daher dürfte auch in solchen Fällen die Desinfektionsdauer keine Abhängigkeit von der Konzentration der Desinfektionsflüssigkeit zeigen. Anders liegen die Verhältnisse, wenn schon sehr kurze Zeiten der vollständigen Bindung genügen, um die

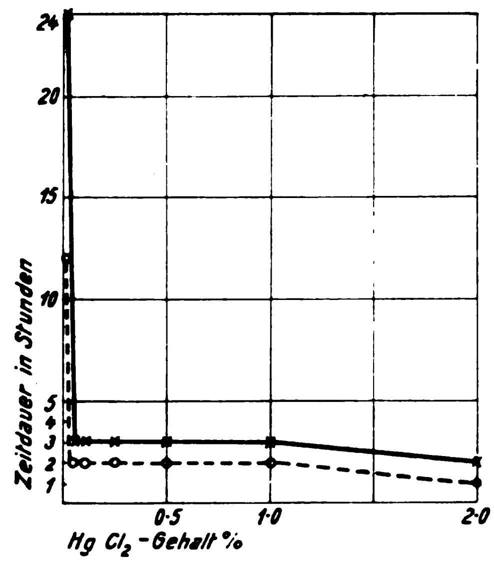


Fig. 4. **Versuche mit Waschen der Keime.**
Wirkung von Sublimat auf Staphylokokken.
×————× niederste sichere Abtötungszeit.
○ – – – – ○ höchste Anwachsungszeit.
(Versuche aus Tabelle 14.)

Keime abzutöten oder wenn auch bei nicht sehr kurzfristiger Desinfektion besondere Diffusionsschwierigkeiten vorliegen. Diese beiden Fälle stellen eigentlich bloß einen Fall eines relativen Hervortretens der Diffusionszeit vor. Die Geschwindigkeit, mit der das Diffusionsgleichgewicht und damit auch die vollständige Bindung erreicht wird, muß vom Gehalt der Desinfektionsflüssigkeit beeinflußt sein, so daß auch die Desinfektionszeit von den einzelnen Konzentrationen abhängt. In solchen Fällen kann auch dann, wenn die Desinfektionswirkung nur auf chemischer Bindung beruht eine Abhängigkeit der Desinfektionsdauer von der Konzentration der Desinfektionsflüssigkeit bestehen, wie dies tatsächlich bei der Desinfektionswirkung von Salzsäure gegenüber Milzbrandsporen vorzuliegen scheint. (Gegenbauer und Reichel (44)).

Für die Wirkung auf Staphylokokken kann das Vorhandensein solcher Zustände aber ausgeschlossen werden, da bei den Waschversuchen sich kein Zusammenhang zwischen Konzentration und Abtötungszeit ergab. Das Wachstum blieb hier im ganzen untersuchten Konzentrationsbereich nach dreistündiger Einwirkungsdauer der Sublimatlösungen aus. Es war also bereits zu diesem Zeitpunkte die Bindungsgröße der Quecksilberproteinverbindung bei den verschiedenen Konzentrationen der Flotte gleichgroß und daher offenbar auch schon vollständiges Diffusionsgleichgewicht eingetreten. Um so mehr mußte dies bei jenen späteren Zeiten der Fall sein, in denen nach der Methodik Ottolenghis keine Entwicklung gefunden wurde.

Bei Milzbrandsporen zeigte sich auch bei den nach der Methodik Ottolenghis ausgeführten Versuchen kein Gang mit der Konzentration, was besagt, daß bei diesen Sporen entweder durch die hydrolytische Aufspaltung des Sporeneiweißes durch die gebundene Salzsäure oder durch die Vernichtung der Funktionsfähigkeit jener Stoffe der Sporen, die eine Verbindung mit dem Quecksilber eingegangen waren, der Tod früher eingetreten war, bevor sich eine sporicide Wirkung des gelösten Sublimates hätte zeigen können. Der Unterschied zwischen Milzbrandsporen und Staphylokokken könnte darauf beruhen, daß vielleicht das Sporeneiweiß ein in Betracht kommendes Lösungsvermögen für Sublimat im Gegensatz zum gewöhnlichen Bakterieneiweiß nicht besitzt.

Sind also die desinfizierten Keime hinterher der Wirkung von Sulfiden und Schwefelwasserstoff ausgesetzt, so ist die Desinfektionswirkung von verschiedenen Faktoren bedingt, je nachdem es sich um Staphylokokken oder Milzbrandsporen handelt.

Bei Staphylokokken stellt sich dieselbe als ein Effekt des im Protoplasma gelösten Sublimates dar. Denn hier ergab sich ein Zusammenhang zwischen Abtötungszeit und Konzentration der Desinfektionslösung, der nach den früheren Erörterungen für den vorliegenden Fall nur durch Verteilungsvorgänge bedingt sein kann. Für Milzbrandsporen muß man aber annehmen, daß das Bestehen von Bindungen den wirksamen Faktor darstellt, da hier die Abtötungszeit für die einzelnen untersuchten Konzentrationen mit Ausnahme der niedersten (0,01%), bei der offenbar sehr spät der Gleichgewichtszustand und damit die vollständige Bindung erreicht wird, im Überschlag dieselbe ist.

Das Ausbleiben des Wachstums nach bloßem Waschen der andesinfizierten Keime, dem, wie dargelegt, für viele Fälle, in denen die Möglichkeit ausgeschlossen ist, daß sie hinterher mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden in Berührung kommen, die praktische Bedeutung einer Abtötung voll zukommt, wäre theoretisch im strengen Wortsinn nicht als erreichte Desinfektion zu betrachten, da nach Sprengung der Quecksilberproteinverbindung durch Schwefelwasserstoff oder Sulfide noch weit höhere Anwachsungszeiten zu erreichen sind. Es handelt sich um eine Art Scheintod oder richtiger um einen relativen Tod der Keime, relativ nämlich zu ihrem nachträglichen Schicksal. Man könnte auch von einer Entwicklungshemmung sprechen, die aber

hier abweichend von den gewöhnlichen Arten entwicklungshemmender Zustände nicht durch die Umwelt, sondern durch eine Zustandsänderung im Chemismus der Keime selbst bedingt ist, die unter gewissen Bedingungen reversibel gemacht werden kann. Es entspricht vielleicht dem bisherigen Sprachgebrauch und auch praktischen Bedürfnissen besser, hier doch von Desinfektionswirkung, wenn auch von noch nicht irreversibler, zu sprechen. Die Erreichung dieses relativen Todes erweist sich sowohl bei Staphylokokken als auch bei Milzbrandsporen als offenbar allein vom Bestehen der chemischen Quecksilberproteinverbindung abhängig, nachdem sich bei keiner der Keimarten eine Abhängigkeit dieser Wirkung vom Sublimatgehalt der Lösung erkennen läßt. Eine Beteiligung der Salzsäurewirkung am Zustand dieser relativen Abtötung kann ausgeschlossen werden, weil der bedeutende zeitliche Unterschied in der gefundenen Abtötungszeit zwischen den Waschversuchen und den Versuchen nach der Methodik Ottolenghis beweist, daß hier eben dem Bestehen der Quecksilberverbindung die abtötende Wirkung zuzuschreiben ist. Würde nämlich die Salzsäureverbindung den Haupt- oder wenigstens einen wesentlichen Faktor darstellen, könnte ein derartiger Unterschied nicht bestehen, da ja doch diese Bindung durch Schwefelwasserstoffzusatz nicht gesprengt wird und durch hydrolytische Aufspaltung entstandene irreversible Zustandsänderungen der Natur der Sache nach durch keinen Prozeß reversibel gemacht werden können.

Trägt man nun nach dem Vorgange von Reichel[42]) die bei den einzelnen untersuchten Konzentrationen der Desinfektionslösung gefundenen höchsten Anwachsungszeiten und niedersten sicheren Abtötungszeiten in ein Koordinatensystem ein, auf dessen Abszissenachse die Konzentration der Desinfektionsflüssigkeit und auf dessen Ordinatenachse die Zeit aufgetragen ist und verbindet die einzelnen Punkte, so erhält man Grenzlinien, zwischen denen jene Linien liegen, die den geometrischen Ort der zu den einzelnen Konzentrationen gehörenden Abtötungszeiten — die Resistenzkurven — darstellen (Fig. 2—4).

Für das Sublimat ergab sich nur bei Staphylokokken als Testmaterial, und zwar für die Versuche nach der Methodik Ottolenghis eine Kurve, deren Gleichung lautet:

$$T \cdot \mathrm{Hg\%}^{0,5} = 1,5$$

worin T die zu den betreffenden Konzentrationen gehörigen Abtötungszeiten in Tagen angegeben bedeutet. Die Gleichung besagt, daß das Produkt aus der Desinfektionsdauer in Tagen und der Wurzel aus der Konzentration der Desinfektionslösung einen konstanten Wert, und zwar für die verwendeten Stämme 1,5 haben muß, wenn Staphylokokken, die hinterher mit Sulfiden oder Schwefelwasserstoff in Berührung kommen, abgetötet werden sollen.

Die Berechnung solcher Gleichungen kann in ausreichender Annäherung nach Reichel[42]) auf rein empirischem Wege durchgeführt werden, indem man versucht, mit welchem Exponenten in Form ganzer Zahlen oder einfacher Brüche der Konzentrationswert der Desinfektionslösung zu versehen ist, damit in der all-

gemeinen Resistenzgleichung $T \cdot HgCl_2\%^n = K$ der Wert k der Konstanz am nächsten kommt. Im vorliegenden Falle ergaben sich aus den in Tabelle 13 enthaltenen Grenzzahlen der eigenen Versuche die folgenden Werte für die Konstante bei den Exponenten 1,0 und 0,5:

$HgCl_2$%	$n = 1,0$ sicher über	$n = 1,0$ wahrscheinlich unter	$n = 0,5$ sicher über	$n = 0,5$ wahrscheinlich unter
0,01	0,10	0,12	1,00	1,20
0,025	0,15	0,20	0,95	1,27
0,05	0,20	0,25	0,89	1,12
0,10	0,30	0,40	0,95	1,27
0,25	0,50	0,75	1,00	1,50
0,50	1,00	1,50	1,41	2,12
1,00	1,00	2,00	1,00	2,00
2,00	0,58	0,67	0,41	0,47
3,00	0,38	0,50	0,22	0,29

Aus der Zusammenstellung ist sofort zu erkennen, daß der k-Wert beim Exponenten 0,5 im Konzentrationsbereich 0,01—1,00% einen leidlich konstanten Wert liefert. Der in die Formel einzusetzende k-Wert muß natürlich aus naheliegenden Gründen höher liegen als der höchste Minimalwert. Die wenigen Versuche mit höheren Konzentrationen stützen allerdings den Exponenten nicht. Doch ist nicht anzunehmen, daß die Kurve bei 1,00% eine Knickung hat, sondern es ist eher an ein zufälliges Ausbleiben des Wachstums in meinen Versuchen zu denken; eine Annahme, die durch die Versuche Ottolenghis, der nach 8½stündiger Einwirkung von 2,712proz. Sublimatlösung Wachstum fand, gestützt wird. Daher dürfte es gerechtfertigt sein, anzunehmen, daß auch für die höheren Konzentrationen der Exponent $n = 0,5$ Geltung hat.

Für dieselben Bakterien ergab sich bei den „Versuchen mit Waschen der Keime" für den Konzentrationsbereich von 0,05—2,00% Sublimat eine mit der Konzentrationsachse parallele Gerade, die durch die Gleichung $T = 0,125$ (3 Stunden) ausgedrückt wird, worin T in Tagen angegeben ist. Es beträgt somit für Staphylokokken, die nach der Desinfektion nicht mit Sulfiden oder Schwefelwasserstoff zusammenkommen, die Desinfektionsdauer innerhalb des angegebenen Konzentrationsbereiches (0,05—2,00%) unabhängig von der Konzentration 3 Stunden.

Bei der Aufstellung dieser Gleichung wurde angenommen, daß es sich bei 2,00% Sublimat, wo eine etwas kürzere Abtötungszeit gefunden wurde, um einen Zufallsbefund handelt.

Bei den nach der Methodik Ottolenghis angestellten Versuchen mit Milzbrandsporen erhielt man für den Konzentrationsbereich 0,05 bis 3,00% ebenfalls eine mit der Konzentrationsachse parallele Gerade, deren Gleichung unter Benützung der a. a. O. wiedergegebenen Versuchsresultate[10]) die Formel $T = 105$ hat, wobei T wieder in Tagen angegeben ist. Kommen also Milzbrandsporen hinterher mit Sulfiden oder Schwefelwasserstoff in Berührung, so beträgt die Desinfektionsdauer innerhalb des Konzentrationsbereiches 0,05 bis 3,00% Sublimat unabhängig von der Konzentration 105 Tage.

Bei den „Versuchen mit Waschen der Keime" wurde für diese Sporen, wie bereits erwähnt, kein eindeutiges Resultat erhalten. Immerhin läßt sich aber sagen, daß ein ersichtlicher Zusammenhang zwischen Konzentration und Desinfektionszeit nicht bestand und daß es daher äußerst wahrscheinlich ist, daß sich auch in diesem Falle die zu den einzelnen Konzen-

trationen gehörigen Abtötungszeiten auf einer zur Konzentrationsachse parallelen Geraden befinden. Die Desinfektionszeit ist auch hier sehr lange, beträgt z. B. im Konzentrationsbereich 0,1—1,0% Sublimat 10 Tage.

Das Zustandekommen der Desinfektionswirkung des Sublimates erscheint somit bei Milzbrandsporen unter allen Umständen an eine gewisse Dauer des Bestehens der Proteinverbindungen geknüpft zu sein, wobei diese Dauer weit größer sein muß, wenn nachträglich die Sporen mit Sulfiden oder Schwefelwasserstoff in Berührung kommen, als wenn dies nicht der Fall ist. Für die Desinfektionswirkung gegenüber Staphylokokken gilt dasselbe nur, wenn eine nachträgliche Berührung der Keime mit Schwefelwasserstoff und Sulfiden ausgeschlossen ist, während im Falle der nachträglichen Einwirkung dieser Stoffe die Wiedererweckung der Keime nach verschieden langer Einwirkungsdauer des Sublimates gelingt, je nach der Höhe der einwirkenden Konzentration. Da die Bindungsgröße von der Konzentration unabhängig ist, die Menge des gelösten Sublimates jedoch davon eindeutig bedingt ist, muß angenommen werden, daß der hier betrachtete Desinfektionseffekt durch das gelöste Sublimat zustande kommt.

Tabelle 17. **Versuche nach der Methodik Ottolenghis.**
Wirkung von Quecksilbercyanid auf Staphylokokken. Temperatur: 20° C.
Überimpfte Keimzahl und Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung siehe Tabelle 12.

Konzentration des Quecksilbercyanides in %	Stunden											Tage										Versuch Nr.
	1	2	3	4	6	8	10	12	16	20	24	2	3	4	5	6	8	10	12	14	16	
0,025											+	+		+		+	—					7
																+	+	—				8
												+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	9
0,05								+	+	+	+	+	+	+	+	+	—					7
																+	—	—				8
												+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	9
0,10								+	+	+	+	+	+	+	+	—	—					7
														+		+	—	—				8
											+	+	+	+	+	+	—	-	—	—		9
0,25								+	+	+	+	+	+	+	+	—	—					7
													+	+		+	—	—				8
												+	+	+	+	+	—	—	—	—		9
0,50								+	+	+	+	+	+	+	+	—	—					7
											+	+	+		+	+	—					8
											+	+	+	+	+	+	—	—	—			9
1,00		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+											7
									+	+	+	+	+	+		—	—	—				8
										+	+	+	+	+	+	+	—	—				9
2,00		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+											7
								+	+	+	+	+	+	—		—	—	—				8
								+	+	+	+	+	+	+	+	—						9
3,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+													7
							+				+	+	+	—		—	—	—				8
							+				+	+	+	+	+	—	—					9

Tabelle 18. **Versuche mit Waschen der Keime.**

Wirkung von Quecksilbercyanid auf Staphylokokken. Dreimaliges Zentrifugieren und Dekantieren. Temperatur: 20° C.

		Versuch-Nr. 1	Versuch-Nr. 2
Keimzahl von 1 ccm des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel in Millionen		400	400
In den Nährboden überimpfte Keimzahl in Millionen		40	38
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung	Höchste Anwachsungszeit in Minuten	100	60
	Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten	120	80
	Überimpfte Keimzahl in Millionen	3.2	3,2

Konzentration des Quecksilberzyanides in %	Stunden					Tage				Versuch Nr.
	1	3	6	12	24	2	4	6	8	
0,01		+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2
0,05	+	+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2
0,10	+	+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2
0,50	+	+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2
1,00	+	+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2
2,00	+	+	+	+	+	+	+	—	—	1
						+	+	—	—	2

Scheuerlen und Spiro[5]) sowie Krönig und Paul[12]) haben nachgewiesen, daß die Quecksilbersalze entsprechend dem elektrolytischen Dissoziationsgrade ihrer wässrigen Lösungen wirken. Diese Tatsache steht mit den vorhergehenden Ausführungen keineswegs in Widerspruch. Denn die Versuche jener Autoren besagen ja nur, daß eine Beziehung zwischen Dissoziation und Desinfektion besteht, lassen aber die Frage nach der eigentlichen desinfizierenden Wirkung offen. Man kann sich ganz gut vorstellen, daß die Bindungsgröße, das Eintreten der Bindung überhaupt, und die Größe des Verteilungsfaktors von dem Dissoziatiomsgrad des Desinfiziens abhängen. Die vorliegenden Versuche mit Quecksilbercyanid, die noch durch Desinfektionsversuche (Tabelle 17 u. 18) ergänzt wurden, sprechen entschieden für diese Auffassung. Bei diesem Quecksilbersalz, dessen Lösung äußerst wenig dissoziiert ist, wurde eine erst nach längerer (15-tägiger) Berührungszeit von Koagulum und Merkuricyanid feststellbare, weit geringere Bindungsgröße der Quecksilberverbindung und ein bedeutend kleinerer Verteilungsfaktor gefunden als beim Sublimat. Dementsprechend ergaben die Desinfektionsversuche sowohl bei den „Versuchen mit Waschen der Keime", wie bei den Versuchen nach der Methodik Ottolenghis weit höhere Abtötungszeiten wie beim Sublimat. Aus dem Umstande nun, daß ein Gang der Abtötungszeit mit der Konzentration der Desinfektionslösung bei keiner der beiden Versuchsarten gefunden wurde, muß angenommen werden, daß die Quecksilberverbindung die Abtötung der Keime bewirke, und daß das gelöste Quecksilbercyanid bei der Desinfektionswirkung keine Rolle spiele.

Die Versuchsanordnung der Desinfektionsversuche mit Quecksilbercyanid war genau dieselbe wie bei den Sublimatversuchen. Als Nährboden bei den Versuchen mit Waschen der Keime wurde nach dem Ausgang eines Entwicklungshemmungsversuch Serumbouillon genommen. Die vorliegenden Versuche lassen die Desinfektionswirkung des Quecksilbercyanides weit weniger günstig erscheinen als die Hünes [54]).

Der Umstand, daß nach 10-tägiger Berührung von Quecksilbercyanid und Hefe in letzterer kein gebundenes Quecksilber gefunden wurde, spricht keineswegs gegen diese Erklärung, da ja durch die Versuche mit Rinderserumkoagulum das Entstehen von Quecksilberverbindungen mit dem Eiweiß auch bei diesem Quecksilbersalze festgestellt wurde. Offenbar verstreicht bei der Hefe eine viel längere Zeit, bis die Protein-Quecksilberverbindung entsteht als bei den Staphylokokken.

VI. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die Versuche zur Klarstellung der chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Sublimat und den hauptsächlichsten in den Zellen vorhandenen Stoffen — den Eiweißkörpern und den Lipoiden — als deren Vertreter koaguliertes Rinderserum und Rüböl genommen wurde, haben ergeben, daß das Sublimat mit dem Eiweiß zwei Arten von Beziehungen, nämlich Lösungsbeziehungen und chemische Bindungen, mit dem Öl nur Lösungsbeziehungen eingeht.

Das Sublimat verteilt sich zwischen Eiweiß und Wasser, sowie Öl und Wasser wie zwischen zwei Lösungsmitteln, wobei das Molekulargewicht des verteilten Stoffes in beiden Phasen dasselbe ist. Der Verteilungsfaktor ist bei den zwei Systemen ein verschiedener. Im Gleichgewicht entfällt auf die Gewichtseinheit Eiweiß des Ausgangskoagulums ungefähr fünfzehnmal mehr Sublimat als auf die Gewichtseinheit der Flotte, auf die Gewichtseinheit Öl dagegen nur $^1/_5$ jener Menge, die in der Gewichtseinheit Flotte vorhanden ist.

Ein Teil der in das Eiweiß übergegangenen Sublimatmoleküle geht eine chemische Bindung mit den Eiweißkörpern ein, indem durch Spaltung dieser Moleküle Protein-Quecksilber und offenbar durch Austausch der Quecksilberatome dieser Sublimatmoleküle gegen Wasserstoffatome der Eiweißkörper freie Salzsäure entsteht, die sich mit dem Eiweiß zu Protein-Salzsäure verbindet. Das durch die Bindungen dem gelösten Anteil entzogene Salz muß natürlich entsprechend dem Verteilungsfaktor aus der Flotte ersetzt werden. Versuche über das Salzsäurebindungsvermögen des verwendeten koagulierten Rinderserums und über das Verhalten des Quecksilbercyanides zu koaguliertem Rinderserum machen es wahrscheinlich, daß beim Sublimat die Größe des Salzsäurebindungsvermögens für Eiweißkörper maßgebend für die Menge des an Eiweiß gebundenen Quecksilbers ist. Durch diese Annahme wird auch die Zunahme des gebundenen Quecksilbers mit der Dauer der Berührung von Koagulum und Sublimatlösung verständlich. Die gebundene Salzsäure spaltet nämlich offenbar das an sie gebundene Eiweiß allmählich hydrolytisch auf, wodurch Eiweißspaltprodukte mit höherem Salzsäurebindungsvermögen entstehen, die dann

entsprechend dem gerade Ausgeführten eine Zunahme des gebundenen Quecksilbers bewirken.

Die Versuche mit Hefe als Vertreter der Mikroorganismen zeigten, daß es auch hier wie aus den früheren Versuchen zu erwarten war, einerseits zu einer einfachen Verteilung des Sublimates zwischen Hefe und Wasser nach konstantem Faktor mit gleichbleibendem Molekulargewicht in beiden Phasen, anderseits zur Bildung von Quecksilber- und Salzsäureverbindungen mit den Eiweißkörpern der Hefe kommt. Der Gewichtsverteilungsfaktor Hefeeiweiß-Wasser zeigt nicht bei allen Versuchen denselben Wert. Offenbar spielt hier das Alter der Hefezellen eine Rolle.

Nach den Ergebnissen weiterer Versuche ist anzunehmen, daß die Quecksilberverbindungen mit dem Eiweiß der Keime durch Schwefelwasserstoff bzw. Sulfiden gesprengt werden.

Aus diesem Umstande ergibt sich, daß die Resultate der Desinfektionsversuche, die die desinfizierten Keime mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden behandeln, anders zu bewerten sind, als die der Versuche mit bloßem Waschen der Keime vor dem Übertragen in das Nährmedium.

Gelangen die Desinfektionsobjekte hinterher in ein Medium, in dem es zur Bildung von Schwefelwasserstoff oder Sulfiden kommt oder entwickeln sich in demselben diese Stoffe (Abfallstoffe, Abwässer, Weichwässer von Gerbereien, Harn, Stuhl, Sputum), so zeigen uns die nach der ersteren Methode angestellten Desinfektionsversuche die Desinfektionskraft des Sublimates gegenüber solchen Objekten. Ist die Gewähr gegeben, daß die desinfizierten Objekte hinterher nicht mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden in Berührung kommen (chirurgische Desinfektion, Händedesinfektion, Desinfektion von Wänden, Fußböden und Einrichtungsgegenständen von Wohnungen), so genügen uns die nach der letzteren Methodik ausgeführten Versuche, um uns ein Bild über die Desinfektionswirkung des Sublimates diesen Objekten gegenüber zu machen.

Die aus den vorliegenden Versuchen unter Berücksichtigung der a. a. O.[10]) publizierten Versuchsergebnisse und der verschiedenen äußeren Verhältnisse sich ergebende Desinfektionsdauer bzw. ergebende Beziehung von Desinfektionsdauer zur Konzentration der Desinfektionslösung wurde nach dem Vorgange von Reichel durch Gleichungen ausgedrückt, die in der folgenden Zusammenstellung zugleich mit dem untersuchten Konzentrationsbereich, für den diese Gleichungen Geltung haben, wiedergegeben sind, wobei die Desinfektionszeit T in Tagen angegeben ist.

Keime	wenn die desinfizierten Keime mit Schwefelwasserstoff oder Sulfiden hinterher			
	nicht in Berührung kamen		in Berührung kamen	
	Gleichung	untersuchter Konzentrationsbereich	Gleichung	untersuchter Konzentrationsbereich
Staphylokokken	$T = 0.125$ (3 Stunden)	0,05–2,00%	$T = \frac{1,5}{HgCl_2\%^{0,5}}$	0,01–3,00%
Milzbrandsporen	$T = 10$	0,10–1,00%	$T = 105$	0,05–3,00%

Zur Auffindung von T nach der Gleichung

$$T = \frac{1,5}{HgCl_2\%^{0,5}}$$

dient die folgende kleine Tabelle:

$HgCl_2\%$	0,01	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	2,0
$T =$	15	6,71	4,74	3,35	2,74	2,37	2,12	1,94	1,79	1,68	1,58	1,50	1,06

Endlich muß aus dem vorliegenden Tatsachenmaterial der Schluß gezogen werden, daß bei Milzbrandsporen der desinfizierende Faktor, und zwar sowohl für die noch reversible als auch für die endgültige Desinfektionswirkung das Bestehen der Bindungen durch bestimmte Zeiten ist, daß jedoch für Staphylokokken zwar für die noch durch Sulfid reversible Desinfektionswirkung dasselbe gilt, nicht aber für die endgültige irreversible, welche als durch die Lösungsverteilung des Sublimates zwischen Wasser und Eiweiß bedingt gedacht werden muß.

Literatur.

1. Koch, Mitt. K. G. 1881.
2. Fränkel, Zeitschr. f. Hyg. 6, 1889.
3. Nocht, bei Behring, Nr. 11.
4. Schäffer, Zeitschr. f. Hyg. 16, 1894.
5. Scheuerlen und Spiro, Münchn. med. Wochenschr. Nr. 4, 1897.
6. Geppert, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 36 u. 37, 1889; D. med. Wochenschr. Nr. 25, 26, 27, 37, 1891.
7. Heider, Arch. f. Hyg. 15, 1892.
8. Ottolenghi, Desinfektion, Nr. 2 u. 3, 1911.
9. Croner und Naumann, D. med. Wochenschr. Nr. 39, 1911.
10. Gegenbauer, Arch. f. Hyg. 87, 1918.
11. Behring, Zeitschr. f. Hyg. 9, 1890.
12. Krönig und Paul, Zeitschr. f. Hyg. 25, 1897.
13. Bellei, Münchn. med. Wochenschr. Nr. 7, 1904.
14. Reichenbach, Zeitschr. f. Hyg. 69, 1911.
15. Nissen, Zeitschr. f. Hyg. 8, 1890.
16. Madsen und Nymann, Zeitschr. f. Hyg. 57, 1907.
17. Xylander, A. K. G. 25, 1907.
18. Reymann und Nymann, Z.. f. B. 58, 1911.
19. Abt, Annales de l'institut Pasteur 2, 1914.
20. Woronzoff, Winogradoff und Kolesnikoff, ref. Z. f. B. 1887.
21. Speck, Zeitschr. f. Hyg. 50, 1905.
22. Steiger und Döll, Zeitschr. f. Hyg. 73, 1913.
23. Schöller und Schrauth, Zeitschr. f. Hyg. 66, 1910; 70, 1912.
24. Schumburg, Zeitschr. f. Hyg. 45, 1903.
25. Paul und Prall, A. K. G. Nr. 26, 1907.
26. Chick und Martin, The Journal of Hygiene, Vol. 8, Nr. 5, 1908.
27. Gregersen, Z.. f. B. 77, 1916.
28. Ballner, Hyg. Rundschau, 13, 1903.
29. Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin, Steinkopff, 1919.
30. Morawitz, Zeitschr. f. Chemie und Industrie d. Kolloide, 6, 1910.
31. Herzog und Betzel, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 67, 1910; 74, 1911.
32. Morawitz, Kolloidchemische Beihefte, I, 1910.

33. Eisenberg und Okolska, Z. f. B. 69, 1913.
34. Bonamartini und Lombardi, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 58, 1908.
35. Pfeiffer und Modelski, ebenda, 81, 1912; 85, 1913.
36. Lippich, ebenda, 74, 1911; 90, 1914.
37. Pauli, Beiträge zur chem. Physiologie u. Pathologie 6, 1905.
38. Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 1903; 42, 1904; 44, 1905.
39. Pauli und Flecker, Biochem. Zeitschr. 41, 1912.
40. Vignon, Comptes rendus, 116, 1893.
41. Schellens, zit. nach Bechold, Nr. 29.
42. Reichel, Biochem. Zeitschr. 22, 1909.
43. Procter, Kolloid-chem. Beihefte 2, 7, 1911.
44. Gegenbauer und Reichel, Arch. f. Hyg. 78, 1912.
45. Sjöqvist, Skand. Arch. f. Physiol. 5, 1894.
46. Cohnheim, Zeitschr. f. Biol. 33, 1896.
47. Bugarski und Liebermann, Pflügers Archiv, 72, 51, 1898.
48. v. Rhorer, Pfügers Archiv 90, 1902.
49. Koßler, Zeitschr. f. physiol. Chemie 17, 1893.
50. Wintz, Münchn. med. Wochenschr. Nr. 13, 1916.
51. Völtz und Baudrexel, Biochem. Zeitschr. 30, 1911.
52. Süpfle und Dengler, Arch. f. Hyg. 85, 1916.
53. Fermi, Desinfektion, Nr. 7, 1909.
54. Hüne, Desinfektion, Nr. 6, 1912.

Über Beziehungen zwischen der Witterung und dem Befinden des Menschen,

auf Grund statistischer Erhebungen dargestellt

von

Ernst Brezina und **Wilhelm Schmidt.**

(Bei der Redaktion eingegangen am 24. September 1920.)

I. Allgemeines.

Die folgenden Untersuchungen setzen diejenigen fort, die wir auf Grund des im Jahre 1912 gesammelten Stoffes zu Kriegsbeginn veröffentlicht haben[1]). Damals hatten wir nur einen Teil bearbeitet, heute bringen wir weiteres. Das Untersuchungsverfahren ist das gleiche geblieben. Da jene Mitteilung an einer den Ärzten weniger zugänglichen Stelle erfolgte, soll das Wichtigste über Zweck und Gang der Untersuchung hier wiederholt, im übrigen aber auf die Ergebnisse des früheren Teils verwiesen werden. Zu bemerken wäre noch, daß das Jahr 1912 in politischer Beziehung vollkommen ruhig und auch von anderen äußeren Ereignissen, welche überwiegenden Einfluß auf die menschliche Seele nehmen konnten, frei war.

Den Herren, die uns das notwendige Untersuchungsmaterial in entgegenkommender Weise zur Verfügung gestellt bzw. gesammelt haben, sei hier nochmals herzlich gedankt; es sind dies: Reg.-Rat Dr. Hecke (Volkszählungskommission); die Schuldirektoren: Bramberger, Dorschner, Schmidt, Drechsler, Lauda; Reg.-Rat Dr. Schlöss, Primarius Dr. Holub (Epileptiker); Direktor Ing. Spängler, Ing. Knappitsch, Ing. Winter, (Straßenbahnen); Polizeipräsident Gorup, Reg.-Rat Dr. Losik (Polizei).

Die Beziehungen zwischen Witterung und physischem und psychischem Verhalten des Menschen sind seit jeher Gegenstand des Interesses, nicht in gleichem Maße der exakten Forschung gewesen. Mehr als die Elemente der Witterung wurden die des Klimas und der Jahreszeiten untersucht. Die nicht besonders zahlreichen Arbeiten über die Bedeutung der Witterung wurden in unserer früheren Arbeit berichtet; seither sind nur

1) Ernst Brezina und Wilhelm Schmidt, Wiener Sitzungsberichte, mathem.-naturwiss. Klasse, Bd. 123. Abt. III, 209 (1914).

wenige, und zwar über die Bedeutung der Luftelektrizität mit negativen Ergebnissen erschienen[1]). Damit ist unser früheres Vorgehen, die Luftelektrizität nicht zu berücksichtigen, gerechtfertigt.

Untersuchungen, wie vorliegende, sind auf zwei Wegen möglich, auf dem Wege des Versuchs (künstliche Herstellung bestimmter Temperatur, bestimmten Luftdrucks usw.) und auf statistischem Wege. Wir haben bisher den letzteren beschritten, weil hier die Anstellung von Massenbeobachtungen verhältnismäßig leicht ist, eigentliche Versuchsfehler ausgeschlossen sind. Der Nachteil, daß bei diesem Verfahren die Witterung, d. i. der gesamte Zustand der Atmosphäre und nicht das einzelne Element derselben, Gegenstand der Beobachtung ist, war leicht auszuschalten: Die Witterung wurde in ihre Elemente aufgelöst — ein beim heutigen Stande der Meteorologie durchaus mögliches Verfahren — und stets nur ein Element der Witterung in seinen Beziehungen zum Verhalten menschlicher Gesamtheiten untersucht, während der etwaige Einfluß der anderen Elemente als „Störung" im statistischen Sinne erschien.

Hat schon jede Untersuchung biologischer Tatsachen mit statistischen Methoden unter der großen Streuung, daher Unsicherheit der Einzelwerte zu leiden, so war das noch mehr hier der Fall, wo die Reize, deren vermuteter Einfluß auf das Verhalten der Gesamtheiten untersucht werden sollte, sehr schwach sind, während sich im physiologischen Versuche die Reizstärke beliebig verändern läßt. Der Mensch kann sich verschiedenen durch meteorologische Elemente gegebenen oder gleichartigen Reizen ungestraft in weit höherem Maße aussetzen, als dies unter den vorliegenden Bedingungen der Fall war. Man denke nur an eine Fahrt mit der Bergbahn, dem Aufzug, an die Arbeit in den Hitzebetrieben, im Glashause, bei der Getreideernte. Dies gilt nicht allein von jenen meteorologischen Elementen, welche Witterungs*zustände* selbst, sondern auch von denen, die Veränderungen solcher zum Ausdruck bringen.

Da die Reizschwelle bekanntlich nach Alter, Geschlecht, Individuum und augenblicklichem Zustande des Individuums verschieden liegt, da ferner die anregende Wirkung schwacher Reize bei Zunahme ihrer Stärke zur lähmenden werden kann, darf man sich gegen den Umstand nicht verschließen, daß Untersuchungen wie vorliegende durch Streuung sehr erschwert, ja daß wichtige Tatsachen auf diese Weise verschleiert werden können. Die in Betracht kommenden Reize sind wahrscheinlich nicht bewußt werdende (tonische Reize *Hellpachs*), da solche, die zum Bewußtsein gelangen (sinnliche oder landschaftliche Reize dieses Verfassers) als grobe Störungen wirken dürften (Schneegestöber usw.).

Die fallweise verschiedene Wirkung der meteorologischen Elemente drücken wir am besten mit den Worten *Berliners* aus[2]), welcher richtig sagt, daß in den klimatischen Faktoren gleichsam biologische Konstanten nicht erblickt werden dürfen, die immer in der gleichen Art wirken. „Die Erfahrung lehrt, daß die gleichen Wetterformen sehr verschiedene Wirkung haben können, je nach der Einstellung des Individuums, seiner Adaptation

1) *Korff-Petersen*, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 80, S. 505 (1915); *Kunow* ebenda, S. 485.

2) Zeitschr. f. Balneologie, Bd. 5, 6 (1912).

an vorangegangene Reize und dem Grade seiner Akklimatisation, auch nach allgemeinen physiologischen Verhältnissen, wie Lebensalter, Ernährungszustand, Sexualfunktion u. dgl."

Darnach ist es am wahrscheinlichsten, daß Zusammenhänge zwischen Vergleichsgrößen und denjenigen meteorologischen Elementen bestehen, die nicht bestimmte Zustände des Wetters, sondern dessen Änderungen ausdrücken.

II. Der Stoff und seine Bearbeitung.

1. Vergleichsgrößen.

a) Früher untersuchte Vergleichsgrößen.

In unserer ersten Arbeit wurde das Verhalten folgender Gesamtheiten bestimmt und mit der Witterung in Beziehung gesetzt: a) Schulkinder. In einer größeren Anzahl Wiener Volksschulklassen trugen die Lehrer täglich am Schlusse des Vormittagsunterrichtes für die Haltung, die Leistung und die Auffassung der Gesamtheit der Kinder Noten (1 = gut, 2 = mittelmäßig, 3 = minder gut) ein. Wie aus der Ähnlichkeit der Noten für je einen Tag hervorging, klassifizierten die Lehrer ihre Schüler unter dem einheitlichen Gesichtspunkt, ob sie Anlaß zur Zufriedenheit oder zum Tadel gegeben hatten, ob die von der Schule ausgehenden Suggestionen, sich daselbst und außerhalb in gewünschter Weise zu verhalten, wirksam gewesen waren oder nicht. Wie aber schon Berliner an seinen Ferienkolonisten zeigt, sind die psychischen Vorbedingungen für gute Leistungen ungleich, je nach dem Schulgegenstande, überdies ist es schwer, dem Zufriedenheitsgrad ziffernmäßigen Ausdruck zu geben. Im allgemeinen wird wohl die Konzentrationsmöglichkeit der Aufmerksamkeit auf den Schulgegenstand für die gesamte Klassifikation ausschlaggebend gewesen sein. Dennoch bleiben Möglichkeiten genug für einen geradezu entgegengesetzten Einfluß scheinbar gleich wirkender äußerer Umstände: solche, die eine Steigerung der Aufmerksamkeit, oder solche, die eine Erleichterung der Bewegungsimpulse (psychomotorische Erregung) bedingten, konnten bald besseres Verhalten, bald stärkere Ablenkung auf andere Gebiete auslösen. Das Verhalten der Mehrheit in einer Schulklasse mußte dann für die Klassifikation des Lehrers ausschlaggebend sein, hat aber vielleicht interessante Tatsachen verschleiert, die bei Einzelversuchen zum Ausdruck kommen könnten.

b) Hilfsbeamte der Volkszählungskommission. Es wurde die von diesen Tag für Tag erledigte Zahl der Lochkarten bestimmt. Die Klassifikation fiel daher aus äußeren Gründen objektiver aus, das Untersuchungsmaterial war gleichmäßiger und wohl brauchbarer; entscheidend für die Leistungen dürfte die Aufmerksamkeit und deren äußere Beeinflussung gewesen sein.

c) Epileptiker. Zur Verfügung standen uns die Aufzeichnungen über die epileptischen Anfälle von 200 bis 300 Insassen der niederösterreichischen Landesirrenanstalt „am Steinhof". Nach Binswanger[1]) ist

1) Handbuch der Nervenkrankheiten.

die Zahl der epileptischen Anfälle vermutlich auf das verschiedene Funktionieren der Hemmungsvorgänge im Zentralnervensystem zurückzuführen.

Zu bemerken wäre noch, daß die in der früheren Arbeit untersuchten Gesamtheiten sich im Zimmer aufhielten, mithin nicht dem reinen Wettereinfluß ausgesetzt waren; anderes gilt von den im folgenden untersuchten neuen Vergleichsgrößen.

b) Neue Vergleichsgrößen.

Diese sind: a) die Zahl der Beanstandungen der Fahrer und Schaffner der Wiener elektrischen Straßenbahn durch die Aufsichtspersonen (Fahrmeister und Kontrollore). Die Zahl der Fahreranstände im Jahre 1912 betrug 3127, davon wurden erhoben wegen zu schnellen Fahrens 802, wegen Nichteinhaltens der Signalvorschriften 773, Sicherheitsanstände betreffend Bremsen 301, sonstige Sicherheitsanstände 867; die übrigen kommen wegen geringer Anzahl nicht in Betracht. Die Zahl der Schaffneranstände betrug 44811. Die häufigsten waren folgende: Nichteinkassieren 9959, nichtremarkierte Fahrscheine 8290, Überfahren der Tarifgrenze 7473, Fahrscheinadjustierungsanstände 6575, einfache Fahrscheinanstände 4074.

Die Tätigkeit der Fahrer und Schaffner erfordert vorwiegend distributive Aufmerksamkeit, rasche zweckmäßige Reaktion auf verschiedene Reize und weniger Konzentration auf schwierige Denkprobleme: es handelt sich hier um vielfach mechanisierten Ablauf der Teilhandlungen. Die Aufgaben des Fahrers und des Schaffners unterscheiden sich voneinander vorwiegend in den Folgen unrichtigen Verhaltens, so daß erstere affektiv mehr in Anspruch genommen sind, als letztere. Die Anstände betreffen, wie sich aus obiger Aufzählung ergibt, hauptsächlich ein Verhalten, das man als „nachlässig" bezeichnen kann, das auf verringerter Aufmerksamkeit und vermehrter Ablenkbarkeit beruht, und das durch ein Sinken der psychischen Aktivität unter die Grenze bedingt ist, die durch die Übung immer niedriger wird, deren Unterschreitung aber doch nicht ohne Schaden für die Leistung erfolgen darf.

b) Die untersuchte Gesamtheit endlich bei den Amtshandlungen der Polizei war die gesamte Wiener Bevölkerung, hauptsächlich die männliche, mit Ausnahme der höchsten und niedersten Altersklassen. Wir faßten zusammen: Körperverletzung, boshafte Sachbeschädigung, Trunkenheits-, Rauf- und sonstige Exzesse unter dem Namen „Körperverletzung"; Unzuchtsdelikte und Sittlichkeitsdelikte unter dem Namen „Sittlichkeitsvergehen"; andere öffentliche Gewalttätigkeit, Wachebeleidigung, Einmengung in Amtshandlungen unter „Gewalttätigkeit". Die Zahl der Exzesse war vorwiegend eine Funktion der größeren oder geringeren Reizbarkeit. Günstig war hohe, ungünstig tiefe Lagerung der Reizschwelle, denn es handelte sich lediglich um Ausschreitungen gemeiner Art, Amtshandlungen der Wache aus politischen Gründen kamen nicht in Betracht.

Weder bei den Fahrern und Schaffnern, noch bei der Polizei ist von vornherein ein eindeutiges Ergebnis zu erwarten, da die gleichen äußeren

Umstände auf verschiedenartige Individuen entgegengesetzt wirken konnten.

c) Verarbeitung des neuen Stoffes.

Da bei unserer Ordnung alle menschliche Tätigkeit nach dem Verlauf der Woche eingerichtet ist, so muß dieser auch an den Vergleichsgrößen zum Ausdruck kommen; um davon unabhängig zu sein, berechneten wir für jeden Tag der Woche den Mittelwert und zogen diesen von dem für jeden einzelnen Tag gefundenen Wert ab.

Bei Fahrern und Schaffnern war der Gang unbedeutend, bei der Polizei ungemein ausgesprochen[1]). Ferner war die Zahl der Fahreranstände jedes Tages proportional anzunehmen der Anzahl der in Dienst stehenden Personen (Anzahl der Motorwagen), dann der Zahl der an diesem Tage die Kontrolle ausübenden Fahrmeister; es wurde deshalb jeder einzelne Ausgangswert durch diese Zahlen dividiert, z. B.: 21. Februar; Zahl der Anstände 14; Korrektur für den wöchentlichen Gang (für den Mittwoch) +0,1, also 14,1; Anzahl der in Betrieb stehenden Wagen 1067, demnach auf gleiche Anzahl von Fahrern bezogen 14,1/1067, d. i., ohne Rücksicht auf den Stellenwert, 1323; diese Zahl dividiert noch durch die Zahl der in Dienst stehenden Fahrmeister (29) gibt 45,7 oder rd. 46. In der so gewonnenen Zahlenreihe zeigen sich aber nichtperiodische Abweichungen von längerer Dauer, als daß sie durch Witterungseinflüsse hätten bedingt sein können. Um sie auszugleichen, wurden die Werte graphisch aufgetragen und durch sie eine leicht geschwungene Mittellinie gelegt, derart, daß die positiven und negativen Abweichungen davon sich innerhalb längerer Zeiträume aufhoben. Die Abweichungen jedes einzelnen Tages von dieser neugewonnenen Mittellinie wurden der weiteren Behandlung zugrunde gelegt, vorher aber alle um den gleichen Betrag vermehrt, um negatives Vorzeichen zu vermeiden und so die Rechnung zu erleichtern. Also etwa im früheren Fall: Stand der Mittellinie für den 21. Februar +21, demnach Zahlenwert 46—21 = 25, hierzu die konstante Größe 30, gibt 55.

In ähnlicher Weise verfuhren wir bei den Schaffnern, nur daß außer den früher angeführten Korrekturen noch durch die Anzahl der Fahrscheine, als Kennzeichen der Intensität der Leistung, dividiert wurde.

Etwas anders war das Verfahren bei der Polizei: bei den Körperverletzungen zeigten trotz Ausgleichs des wöchentlichen Ganges Sonn- und Feiertage und ihre Nachbarn so starke Unregelmäßigkeiten, daß sie ausgeschieden und für sich behandelt wurden (Fe, die übrigen We). Der Ausgleich für längerdauernde nichtperiodische Abweichungen erwies sich bloß hier als nötig, nicht aber bei den anderen beiden Gruppen (Sittlichkeitsvergehen und Gewalttätigkeit).

Die so gewonnenen Zahlen wurden dann in die weiter unten, Abschnitt 3 beschriebenen Zählkarten eingetragen.

2. Meteorologischer Ausgangsstoff.

Wenn ein Zusammenhang zwischen Witterung und Befinden aufgestellt werden soll, so liegt die Schwierigkeit darin, daß der Begriff der

1) Siehe Brezina, Archiv f. Hygiene, Bd. 89, 27 (1920).

Witterung als ganzes nicht zahlenmäßig erfaßt werden kann; man ist vielmehr genötigt, die Beziehung der zu untersuchenden Vergleichsgrößen mit jenen Elementen herzustellen, die die wissenschaftliche Meteorologie zur Beschreibung der Witterung verwendet. Dabei müssen wir uns auf die derzeit bekannten beschränken, dürfen uns aber nicht verhehlen, daß es immer noch wesentliche Seiten der Witterungserscheinungen geben kann, die weder unmittelbar auf unsere Sinne, noch deutlich auf unsere Apparate wirken. Außerdem ist noch folgendes zu beachten: wenn wir einen tatsächlichen Zusammenhang zwischen einem meteorologischen Element und einer Vergleichsgröße finden, so muß jenes damit noch nicht einfach als eigentlich wirkende Ursache aufgefaßt werden; diese kann vielmehr immer noch weit hinter jenem liegen.

Als Grundlage dienten uns hier die Beobachtungen an der Zentralanstalt für Meteorologie und Geodynamik auf der Hohen Warte, Wien XIX; sie stammen zwar aus freier Lage, inmitten von Villen, doch darf man sie ohne weiteres als Verhältniszahlen auch für das ganze Stadtgebiet als maßgebend betrachten. Benutzt werden hier folgende Angaben: aus der Gruppe des Luftdrucks

a) die Änderung des mittleren Barometerstandes vom Vortag her (Län). Diese wurden aus den Abweichungen jedes Tages vom langjährigen Mittel gewonnen; der jährliche Gang, dem doch nur geringere Wirkungen in unserem Sinn zuzuschreiben wären, erscheint damit ausgeschaltet.

b) Die raschen Luftdruckschwankungen (Lsn) als Kennzeichen der Unruhe in der Luft; sie sind den Aufzeichnungen des Variographen entnommen, der nicht den Luftdruck selbst, sondern dessen Änderungsgeschwindigkeit mit der Zeit aufschreibt[1]). Dabei lassen sich die merklicheren Ausschläge in zwei Gruppen ordnen: die Änderungen des Luftdrucks konnten sich einmal in längeren Zeiträumen von etwa 4 bis 20 Minuten wellenähnlich wiederholen oder aber, wie es bei böigem Wetter der Fall war, in ähnlicher Zeit in gleichem Sinn erhalten, Gruppe längerdauernde Schwankungen; bei anderer, meist bei windiger, Witterung finden sich aber ganz rasche, kurzdauernde Zacken, die trotz des größeren Ausschlages auf den Registrierstreifen eben wegen des schnellen Wechsels nicht stärkere Schwankungen des Luftdrucks anzeigen, Gruppe kurzdauernde Schwankungen.

c) allgemeine Luftdruckverteilung über Europa (Lv), diese eigentlich gedacht als eine Zusammenfassung von Witterungszuständen, die sich schon gut bewährt hat. Hier wurde nach den täglichen Wetterkarten bestimmt, ob Wien an dem betreffenden Tag mehr in der Mitte eines Tiefdruckgebietes lag; ob am Rand eines Tiefdruckgebietes; ob in einer Rinne oder einem Sattel niedrigen Druckes; ob in einem Hochdruckgebiet, am Rande eines solchen, oder in einem Rücken hohen Druckes. Das waren die schließlich gewählten vier Hauptgruppen.

1) Vergleiche Wilhelm Schmidt, Wiener Sitzungsberichte; math.-naturw. Kl., Bd. 118, IIa, 885 (1909); kurzer Auszug Meteorolog. Zeitschr., Bd. 29, 406 (1912).

d) Lage zu den Steig- und Fallgebieten des Luftdruckes (Fs). Steiggebiete nennt man dabei jene Gebiete der Wetterkarten, über denen seit den letzten 24 Stunden der Luftdruck stärker gestiegen ist, Fallgebiete jene, über denen er stärker fiel. Karten, die diese Gebiete darstellen, werden täglich an der Zentralanstalt als Arbeitskarten („Isallobarenkarten") angefertigt und haben sich zur Kennzeichnung der Witterung einigermaßen bewährt. Sie hängen natürlich mit den Gebieten hohen und tiefen Druckes, aber auch mit ihrer Fortbewegung zusammen und lassen insbesonders die kurz dauernden rascher vor sich gehenden Veränderungen — meist von etwa ein- bis dreitägiger Dauer — stärker hervortreten. Unterschieden wurde dabei nach der Lage des Beobachtungsortes gegenüber den Fall- und Steiggebieten, diese selbst wieder nach ihrer Stärke in zwei Gruppen unterteilt.

Gruppe der Temperatur:

e) Tagesmittel der Temperatur (T), gewonnen aus den Ablesungen zu den drei Terminen um 7, 2, 9 Uhr, ausgedrückt in °C.

f) Änderungen der Mitteltemperatur des Tages gegenüber dem Vortag (Tän), wobei aber der jährliche Gang durch denselben Kunstgriff, wie oben bei den Luftdruckänderungen, bereits ausgeschaltet wurde.

Gruppe der Feuchtigkeit:

g) Relative Feuchtigkeit (Rf), Tagesmittel, ebenfalls aus den drei Terminablesungen, in %.

Wir hatten, ebenso wie in der früheren Arbeit, eine viel größere Zahl von Elementen der Untersuchung zugrunde gelegt, nämlich außerdem noch die Abweichungen der Luftdruckmittel des Tages vom langjährigen Mittel, rasche Luftdruckschwankungen des Tages selbst, die Abweichung der Temperatur von ihrem Normalstand, die höchste, die niederste Temperatur des Tages, die daraus sich ergebende Tagesschwankung, die Summen der Temperaturabweichungen des Tages und Vortages vom langjährigen Mittel, ebenso die Summen der Abweichungen des Tages und der zwei vorhergehenden, das Tagesmittel des Dampfdrucks, die Niederschlagssumme, das Tagesmittel des Ozongehaltes, das Tagesmittel der Bewölkung, die Windrichtung und -Stärke. Absichtlich beiseite gelassen waren die elektrischen Erscheinungen, nicht bloß deshalb, weil sie gerade in einem Stadtgebiet starke und unübersehbare Veränderungen erleiden, übrigens zum Teil mit dem Ozongehalt parallel gehen, sondern auch deshalb, weil ihre Schwankungen so groß sind, daß man bei irgend vorhandener Wirkung diese schon längst hätte nachweisen müssen. Über alle die in diesem Absatz genannten Elemente wird hier nicht einzeln berichtet; sie haben früher wie jetzt keine ausgesprochenen Beziehungen geliefert.

Da es leicht möglich erschien, daß gleiche Werte, insbesondere gleiche Abweichungen, je nach der Jahreszeit ganz verschiedene Wirkungen auf den Menschen hervorbrächten, wurde die Trennung nach den Jahreszeiten durchwegs durchgeführt, mit alleiniger Ausnahme der Fall- und Steiggebiete, bei denen sonst die maßgebenden Gruppen zu wenig besetzt

worden wären. Jänner, Feber, November, Dezember sind als Winter (W.), Mai bis September als Sommer (S.), die anderen als Übergangszeiten (Ü.) zusammengefaßt. Es ergibt sich so auch eine wünschenswerte Prüfungsmöglichkeit: eine wesentliche Beziehung müßte sich in einem oder anderm Sinn in allen Jahreszeiten äußern — zeigt sie sich nur in einer, so ist das sehr wahrscheinlich dem „Zufall“ zuzuschreiben.

3. Arbeitsmethode.

Für jedes meteorologische Element stellten wir, da ja Einzelwerte wegen der unausbleiblichen Störungen nicht zu brauchen waren, bestimmte Gruppen fest, z. B. bei den Luftdruckänderungen von —17,9 bis —13,0, —12,9 bis —8,0 mm usw. Jeder einzelne Tageswert einer bestimmten Vergleichsgröße, z. B. der Schaffneranstände, wurde je nach dem Betrag der Luftdruckänderung, die dieser Tag gegenüber dem Vortag aufwies, in eine der Gruppen eingeteilt, schließlich alle in je einer Gruppe vereinigten Werte gemittelt. Dieses bei der großen Anzahl der möglichen Beziehungen recht mühsame Verfahren erleichterten wir uns durch die Benutzung von Zählkarten, deren jede für einen bestimmten Tag galt. Sie hatten Größe und Festigkeit der Spielkarten und enthielten auf der einen Seite in vorgedruckter Einteilung neben dem Datum alle meteorologischen Elemente, auf der Rückseite die Vergleichsgrößen in der Anordnung, die aus der Wiedergabe auf Seite 91 erhellt. Sollte dann eine bestimmte Beziehung untersucht werden, so waren einfach die Karten nach dem meteorologischen Element in die Gruppen zu ordnen, und die entsprechenden Vergleichsgrößen konnten nun gleich in die Rechenmaschine diktiert werden. Dieselbe Gruppierung ließ sich dann für die Ableitung aller Vergleichsgrößen benutzen. In verhältnismäßig kurzer Zeit war so eine große Anzahl verschiedener Beziehungen erledigt, für die vorliegende Arbeit 95 neue zu den früheren 160.

Die so gewonnene Reihe von Mittelwerten für die einzelnen Gruppen war aber nicht in jedem Fall als verläßlich zu betrachten. Jeder einzelne Wert unterlag ja zahlreichen Einflüssen, nicht bloß in der Verschiedenheit der anderen meteorologischen Elemente, sondern auch außerhalb gelegenen, die wir hier einfach mit dem Namen „Zufall“ bezeichnen wollen; dies zeigte sich schon in den Abweichungen innerhalb jeder Gruppe, mit anderen Worten in der großen Streuung. Sie wurde zwar durch die Mittelbildung herabgesetzt — wenn die Regeln der Wahrscheinlichkeitsrechnung gelten, auf den $\sqrt{n}$ ten Teil, wenn n Werte vereinigt wurden —, ließ sich aber natürlich nicht ganz ausschalten. Um einen Überblick über den Einfluß dieses Zufalls zu gewinnen, hatten wir in der früheren Arbeit, z. B. bei den Epileptikern, den ganzen Stoff nach einem rein zufälligen Kennzeichen in zwei Hälften geteilt und diese gegeneinander abgewogen. Hier hingegen gingen wir anders vor: nehmen wir an, bei einer bestimmten Vergleichsgröße seien die Abweichungen der Einzelwerte von dem allgemeinen Mittelwert rein zufällige; dann kann man die Abweichungen der Gruppenmittelwerte vom allgemeinen Mittel bilden, aus ihnen durch Multiplizieren mit $\sqrt{n}$ — siehe oben — wieder zurück die mittleren Abweichungen der Einzelwerte rechnen und müßte dann annähernd die

Beispiel einer Zählkarte: die für den 28. Oktober 1912.

Vorderseite.

1028 [1]) Mo [2])	+ 3·1 [3])	— 08 [4])	
6·3 [5])	— 0·9 [6]) + 18 [7])	9,2 [8]) 3,5 [9])	5,7 [10])
6·1 [11])	86 [12]) 76 [13])	— [14])	0,0 [15])
8·3 [16]) 70 — 1 [17])	SE 4 [18])		
36 [19])	— 32 [20])		
HR [21]) S 3 E [22])	2.563 } [23]) 3.6	4,1 [24])	
2 u [25]) 2 u [26])			

Rückseite.

— 28 [27])	— 7 [28])		1028 [29])
+ 2 [30]) — 26 [31])		39 [32])	8 [33]) 12 [34])
+ 6 [35])	— 5 [36])		
7 [37]) 9 [38])	6 [39]) 8 [40])	13 [41]) 17 [42])	
4 [43]) 20 [44])	8 [45]) 22 [46])	42 [47])	+ 14 [48])
18 [49]) 25 [50])		37 [51]) 56 [52])	
			302 [53])

[1]) Datum; [2]) Wochentag; [3]) Luftdruckabweichung vom Normalstand; [4]) Luftdruckänderung vom Vortag her (Län); [5]) Temperatur, Tagesmittel (T); [6]) Abweichung der Temperatur vom Normalstand; [7]) Temperaturänderung vom Vortag her (Tän); [8]) höchste, [9]) niederste Temperatur des Tages; [10]) Tagesschwankung; [11]) Dampfdruckmittel; [12]) Mittel der relativen Feuchtigkeit (Rf); [13]) relative Feuchtigkeit um 2 Uhr nachmittags; [14]) Niederschlag; [15]) Ozongehalt, Tagesmittel; [16]) Mittel der Bewölkung; [17]) Bewölkung um 2 Uhr nachm.; [18]) Windrichtung und -Stärke um 2 Uhr nachmittags; [19]) Summe der Temperaturabweichung des Tages und Vortages vom langjährigen Mittel; [20]) Summe der Temperaturabweichungen des Tages und der zwei vorhergehenden; [21]) herrschendes barometrisches Gebilde (Lv); [22]) Lage der Fall- und Steiggebiete (Fs); [23]) Lage und Betrag der Batometermaxima; [24]) Lage und Betrag der Barometerminima; [25]) rasche Luftdruckschwankungen in der vorhergehenden Nacht (Lsn); [26]) dieselben tagsüber.

[27]) Leistungen der Volkszählungskommission; [28]) Unterschied der vorhergehenden auf den Nachtag; [29]) Datum; [30]) Einfluß der Temperaturabweichungen vom Mittel auf die Volkszählungskommission; [31]) Leistungen der Volkszählungskommission nach Ausschalten des Temperatureinflusses; [32]) Polizei, Körperverletzungen; [33]) Sittlichkeitsvergehen; [34]) Gewalttätigkeiten; [35]) Volksschulen, Leistung; [36]) Veränderung der vorhergehenden auf den Nachtag; [37]) Epileptiker, ganzjährige Pfleglinge, Männer, Anzahl der Anfälligen bei Tag; [38]) ebenso, Weiber; [39]) wie [37]), jedoch bei Nacht; [40]) wie [38]), jedoch bei Nacht; [41]) Summe von [37]) und [39]); [42]) Summe von [38]) und [40]); [43]) Anfällige der nicht ganzjährigen Pfleglinge, Männer und Weiber, bei Tag; [44]) Summe von [37]), [38]) und [43]); [45]) wie [43]), jedoch bei Nacht; [46]) Summe von [39]), [40]) und [45]); [47]) Summe aller Anfälligen; [48]) Änderung von [47]) auf den Nachtag; [49]) Epileptiker, Männer, Anzahl der Anfälle; [50]) ebenso, jedoch Frauen; [51]) Straßenbahn, Fahreranstände; [52]) Schaffneranstände; [53]) fortlaufende Zahl des Tages.

gleiche Zahl erhalten, wie man sie aus den Einzelwerten selbst als mittlere Abweichungen unmittelbar errechnen würde. Nicht aber, wenn sich die Verteilung von einer rein zufälligen wesentlich unterscheidet, wenn man also eine tatsächliche Beziehung vor sich hat: neben den durch den Zufall bewirkten Abweichungen, die sich bei größerer Anzahl zum Teil gegenseitig aufheben, besteht dann noch eine wesentliche, bei allen in der Gruppe vereinigten Einzelwerten im selben Sinn wirkende Abweichung und diese Abweichung muß auch im Gruppenmittel voll auftreten. Sie wird nun, wenn man gleich vorgeht wie früher, durch die Multiplikation mit $\sqrt{n}$ unverhältnismäßig vergrößert, natürlich um so mehr, je größer der Umfang n, die Anzahl der in einer Gruppe vereinigten Werte. Diese Bemerkung haben wir in folgender Weise benutzt: alle für eine bestimmte Vergleichsgröße bei verschiedenen meteorologischen Elementen erhaltenen Mittelwerte von Gruppen wurden in drei Klassen eingeordnet, solche, die aus Gruppen mit kleinem Umfang hervorgingen, dann solche aus mittlerem, schließlich solche aus großem. Für jede dieser Klassen wird auf die oben angegebene Weise die mittlere Abweichung des Einzelwertes gerechnet. Wenn nun in irgendeinem merkbaren Teil eine tatsächliche Beziehung besteht, dann müssen die aus der dritten Klasse gerechneten mittleren Abweichungen am größten, die aus der ersten am kleinsten sein. Das Folgende sind die so erhaltenen Zahlen für Polizei, Gewalttätigkeiten:

Klasse	1	2	3
Gruppenumfang	gering	mittel	groß
Winter	6,8	7,2	6,0
Übergangszeiten	4,9	5,8	5,2
Sommer	6,4	6,1	4,4

Wir sehen: die Werte für die drei Klassen sind in jeder Jahreszeit nicht wesentlich voneinander verschieden; sie sind in der dritten Klasse gerade in den wichtigsten Jahreszeiten, Winter und Sommer, statt am größten, sogar am kleinsten. Das heißt aber: die Abweichungen müssen im ganzen als rein zufällige aufgefaßt werden, für eine tatsächliche Beziehung besteht kein Anhaltspunkt.

Dieses Ergebnis zeigt uns weiters, daß die Regeln der Wahrscheinlichkeitsrechnung genügend erfüllt sind, um auch in jedem einzelnen Fall die Verläßlichkeit, das „Gewicht" des Gruppenmittels zu erschließen. Da überwiegend deutliche Beziehungen offenbar nicht vorkommen, ist umgekehrt jener Anteil der Abweichung eines Gruppenmittels, der als „zufällige Störung" anzusprechen wäre, durchschnittlich gleich dem $\sqrt{n}$ ten Teil der mittleren Abweichung des Einzelwertes. Diese ist nach den eben gebrachten Zahlen für Polizei, Gewalttätigkeit etwa gleich 5,9, daraus folgt für ein Mittel aus einer Gruppe vom Umfang 4 eine durchschnittliche mittlere Abweichung 2,9, für den Umfang 10 1,9. Abweichungen von größerem als dem dreifachen Betrag dieser durchschnittlichen mittleren Abweichung sind in jedem Fall schon recht unwahrscheinlich — es dürfte auf 1000 Fälle etwa eine kommen. Dies behalte man im Auge, wenn man die später folgenden Tabellen betrachtet; man wird dann erkennen, wie

die Verschiedenheiten innerhalb jeder Reihe von Mitteln, die nach einem meteorologischen Element geordnet sind, sich nirgends mit Sicherheit über die schon bei alleinigem Walten des Zufalls zu erwartenden erheben.

In der früheren Arbeit hatten wir ferner großes Gewicht gelegt auf den Zusammenhang zwischen „direkten" und „inversen" Beziehungen: wenn nämlich, z. B. beim Gruppieren nach dem Luftdruck (direkte Betrachtungsweise), einem Zunehmen der Luftdruckwerte eine Vergrößerung der Leistung entsprochen hätte, dann hätte man umgekehrt beim Gruppieren nach den Leistungen (inverse Betrachtungsweise) eine Zunahme der Luftdruckmittel für zunehmende Leistungen finden müssen, wenn die Beziehung eine wesentliche und nicht allzusehr gestörte war. Dieses Hilfsmittel der Kritik brauchten wir hier wegen des allgemein negativen Ergebnisses nicht erst anzuwenden; an dessen Stelle führten wir nur für die wichtigsten Beziehungen eine Doppelgruppierung durch, für die in der Tabelle Seite 94 auch ein Beispiel gegeben wird. Ihre Benutzung ist aus dem im Abschnitt 2 Gesagten wohl deutlich genug. Hier wollen wir nur erwähnen, daß hierdurch unsere Ansicht vom Fehlen deutlichen, über die Störungen hinaus erkennbaren Zusammenhangs durchwegs bestätigt wurde[1]).

III. Ergebnisse.

Wir hatten die Absicht, die wichtigsten und nach den früheren Untersuchungen aussichtsreichsten Beziehungen tabellarisch wiederzugeben, wie es für die anderen Vergleichsgrößen in der ersten Mitteilung nachzusehen ist. Leider verbieten das die Druckkosten; wir müssen uns deshalb auf die Wiedergabe in Worten beschränken.

Nur um den Ausdruck zu vereinfachen, lassen wir öfter Wendungen zu, die den Anschein erwecken könnten, als sähen wir hier schon bestätigte Beziehungen oder ursächliche Zusammenhänge; über unsere wirkliche Ansicht lese man Abschnitt I oder die Schlußzusammenfassung.

Die Bedeutung der Abkürzungen erhellt aus Abschnitt II2.

1. Fahreranstände.

Län. Bei stärkeren Län, gleichgültig ob positiv oder negativ, war die Zahl der Beanstandungen gering. Sie wuchs in den Ü. mit dem Betrag der Zunahme, abgesehen von der Gruppe der stärksten. Im S. ist eine ähnliche Beziehung höchstens schwach ausgesprochen.

1) Der Wert statistischer Ergebnisse, positiver sowohl wie insbesondere negativer, hängt wesentlich von dem Wert der benützten Methode ab. Deshalb, weil wir diese weiter ausgebildet haben und uns vor allem Mühe gaben, die Kritik möglichst zu schärfen, setzten wir sie hier auch ausführlicher auseinander, trotz der abfälligen Erwähnung unserer früheren Arbeit vonseiten Willy Hellpachs (Die Geopsychischen Erscheinungen, 2. Auflage, 1917, S. 477). Darüber, daß seine Wiedergabe aus dem Zusammenhange gerissener Bruchstücke die Absicht und wahre Meinung der Verfasser nicht erkennen läßt, wollen wir hier weiter kein Wort verlieren; Verwahrung legen wir aber ein gegen seinen Versuch, Meinungsverschiedenheiten unter Benützung von zeitgemäßen Schlagworten politischen Beigeschmacks auszutragen; diese mag man getrost Tagschreibern niederster Art überlassen, in wissenschaftliche Veröffentlichungen gehören sie nicht.

Lsn. In den Ü. und S. zeigt sich bei den längerdauernden Schwankungen ungünstiges Verhalten bei mittlerer Intensität — ein Ergebnis, das sich kaum physiologisch deuten läßt. Kurzdauernde Schwankungen lieferten bei stärkerer Intensität ungünstigeres Verhalten.

T. Ein irgendwie ausgesprochener Gang tritt nur in den Ü. hervor: die Zahl der Anstände fällt mit der Temperatur ab. Für den W. ergibt sich fast eher ein Anstieg.

Tän. Deutlich bloß Ü.: wenig Anstände nach Temperaturfall.

Rf. Im W. wirkt hohe Rf. güstig, in den Ü. eher ungünstig, S. unentschieden.

Lv. Sattel und Rinne waren in den Ü. und S. ausgesprochen am ungünstigsten; im W. gerade umgekehrt, an ihre Stelle trat Tiefdruck-Rand und Hoch.

Fs. Stärkere Steiggebiete im Westen gingen mit ungünstigem, schwächere mit günstigem Verhalten einher.

2. Schaffneranstände.

Län. Durchwegs unausgesprochen.

Lsn. Im W. und Ü. wären bei länger dauernden Schwankungen mittlere Intensitäten günstig, im S. wäre das Verhalten um so ungünstiger, je stärker die Schwankungen. Bei kurz dauernden zeigte sich ungünstigeres Verhalten bei stärkeren Ausschlägen, in den Ü. gerade umgekehrt.

T. Im W. scheint höhere Temperatur ungünstig, in Ü. und S. durchwegs günstig zu sein.

Um gerade bei diesem sonst überzeugenderen Element darzulegen, aus welch auseinanderliegenden Einzelzahlen sich die Mittelwerte zusammensetzen, wie gering daher ihre Sicherheit ist, sei auf die folgende Tabelle verwiesen. Entsprechend den Ausführungen im Abschnitt 3 sind hier für verschiedene Gruppen in der Temperatur (senkrechte Eingänge) und in jeder dieser wieder für einzelne Gruppen in der Anzahl der Beanstandungen für jeden Tag (wagrechte Eingänge) die beobachteten

Häufigkeitverteilung bei doppelter Gruppierung.

Tagesmittel der Temperatur	Winter					Übergangszeiten					Sommer				
	Gewalttätigkeit					Gewalttätigkeit					Gewalttätigkeit				
	≦ 8	9 bis 12	13 bis 16	17 bis 20	> 20	≦ 8	9 bis 12	13 bis 16	17 bis 20	> 20	≦ 8	9 bis 12	13 bis 16	17 bis 20	> 20
21 bis 18															
17 » 14							1				4	19	15	10	1
13 » 10	1	2	1			3	5	5	1		3	19	23	7	3
9 » 6	4	8	3	2	1	7	22	13	5	1	4	14	7	2	1
5 » 2	12	16	10	3	1	1	9	5	1	3	3	9	5	1	1
1 » — 1	6	14	9	1	1	1	2	1	3	3					
— 2 » — 5	3	9	1												
— 6 » — 9	2	6	1												
— 10 » — 13	1	3													

Häufigkeitszahlen eingesetzt. Wenn z. B. die für Ü. und S. gefundene Beziehung eines günstigen Verhaltens bei hohen Temperaturen wesentlich und deutlich hervorträte, so müßte sich etwa im Viereck für S. ein Streifen höherer Anzahlen von links oben nach rechts unten herabziehen, d. h. es wären durchschnittlich kleinere Anzahlen von Anständen bei höheren Temperaturen, größere bei niedrigeren Temperaturen zu erwarten. Davon ist nun kaum eine Andeutung zu bemerken, ebensowenig in den Ü., nicht zu sprechen vom W.

Tän. Nur in den Ü. etwas zu erkennen: bei stärkeren Temperaturzunahmen ungünstigeres Verhalten.

Rf. Durchaus unsicheres Verhalten.

Lv. Im Gegensatz zu dem Ergebnis bei den Fahrern ist Sattel und Rinne durchaus am günstigsten, Hoch am ungünstigsten.

Fs. Bei größeren Intensitäten ist Fallgebiet im Westen ungünstig.

3. Körperverletzung.

Län. An Werktagen in W. und S. Zunahme des Luftdrucks günstig, Ü. unausgesprochen; an Feiertagen Ü. und S. gerade umgekehrt.

Lsn. Zeigt keine deutliche Beziehung an.

T. We. im allgemeinen unentschieden; Fe. Zunahme der Temperatur in Ü. und S. günstig.

Tän. Nur im W. an We. mehr Ausschreitungen bei steigender Temperatur, sonst durchaus unausgesprochen.

Rf. Durchwegs undeutlich, bloß geringe Zunahme der Körperverletzungen bei höherer Feuchtigkeit im S.

Lv. Im W. ist die Anzahl der Körperverletzungen bei Hochdruck geringer, im S. umgekehrt; das wäre einfach durch grobe Wirkung erklärlich: im W. sind die Hochdruckgebiete mit kaltem, meist nebligem Wetter verbunden, im S. mit schönem.

Fs. Nur bei mittlerer Stärke steigt sowohl an We. wie an Fe. die Zahl der Verletzungen vom Fallgebiet am Ort bis zum Steiggebiet am Ort an; sonst ist nichts ausgesprochen.

4. Sittlichkeitsvergehen.

Län. W. und Ü. unausgesprochen, im S. ist stärkere Luftdruckzunahme günstig.

Lsn. Bei längerdauernden Schwankungen in W. und Ü. ein Anstieg mit zunehmender Intensität, im S. nichts; kurzdauernde verhalten sich im W. und den Ü. entgegengesetzt, im S. ebenfalls nichts Deutliches.

T. W. und S. zeigen Anstieg bei zunehmender Temperatur, Ü. leichten Abfall.

Tän. Durchaus unausgesprochen.

Rf. Durchaus unausgesprochen.

Lv. W. keine eigentlich verläßlichen Unterschiede, in den Ü. Hochdruck am günstigsten, S. ganz gleichmäßig.

Fs. Bei mittlerer und größerer Intensität Maximum bei Steiggebiet im Westen.

5. Gewalttätigkeit.

Län. Überhaupt nichts erkennbar.

Lsn. Bei längerdauernden Schwankungen widersprechen die verschiedenen Jahreszeiten einander; kurzdauernde zeigen im allgemeinen einen Abstieg mit zunehmendem Ausschlag.

T. In W. und S. Anstieg mit zunehmender Temperatur, Ü. unausgesprochen.

Tän. In W. und Ü. deutlich, im S. weniger ausgesprochen, sind stärkere Änderungen ungünstig.

Rf. W. und S. verhalten sich entgegengesetzt, Ü. ganz ergebnislos.

Lv. Tiefdruck-Rand im W. am günstigsten, im S. am ungünstigsten; Ü. in der Mitte.

Fs. Am günstigsten bei schwächerer Intensität Steiggebiet im Westen, bei mittlerer Fallgebiet am Ort, bei größter Fallgebiet im Westen.

Beziehungen mit den übrigen meteorologischen Elementen konnten noch viel weniger festgestellt werden, sie werden deshalb auch gar nicht angeführt.

IV. Zusammenfassung.

Als Ergebnisse unserer früheren Untersuchungen an Schulkindern, Bureauarbeitern, Epileptikern hatten wir die sonst beliebte Änderung des Luftdruckes als kaum von wesentlichem Einfluß erkannt; dagegen schienen rasche Schwankungen (wie sie ja auch gerade vor Föhn vorkommen) Leistungsfähigkeit und Befinden herabzusetzen. Die Beziehungen zur Temperatur faßten wir zusammen in den Satz: „Leichte geistige Arbeit war zur Zeit hoher Temperaturen bzw. Temperaturabweichungen (besonders von zweitägiger Dauer) herabgesetzt, Epileptiker scheinen kälteempfindlich.“ In den wenig ausgesprochenen Beziehungen zum Dampfdruck schien bloß im Sommer hoher Dampfdruck (Schwüle) bei Bureauarbeitern und Epileptikern günstig zu sein. Als nicht zweckentsprechend fiel das Eingehen auf Hoch- und Tiefdruckgebiete aus. Hingegen erwies sich „diejenige Witterung für die Leistungen von Bureauarbeitern und Schülern am ungünstigsten, die bei Fallgebiet an Ort und Stelle und bei Steiggebiet im Westen herrscht. Bei Epileptikern ist genau das Entgegengesetzte der Fall“. Angeführt hatten wir noch die Übereinstimmung dieser Beobachtung mit der Traberts[1]), daß eine heranrückende oder an Ort und Stelle befindliche Depression mit Krankheitsgefühl bei Föhnempfindlichen einherging.

Unsere jetzigen Untersuchungen an den Fahrern und Schaffnern der Straßenbahn und an Amtshandlungen der Polizei sind nun nicht geeignet, die damaligen Ergebnisse zu bekräftigen. Zum Beispiel würde für rasche Luftdruckschwankungen nur bei den Sittlichkeitsvergehen der Ausfall mit dem früheren übereinstimmen; alle anderen Vergleichsgrößen zeigen aber zum Teil das entgegengesetzte, zum Teil ein undeutliches oder sogar in den einzelnen Jahreszeiten vollkommen abweichendes Ver-

1) Denkschriften d. Wiener Akademie d. Wiss. Bd. 81, 115 (1908).

halten. Und doch sollte, wenn irgendwo, hier Übereinstimmung herrschen, da dieses meteorologische Element durch das Zimmerklima nicht verändert wird. Es ist daher nicht sehr verwunderlich, daß die Beziehungen zu anderen Elementen noch weniger bestätigt werden. Weder in den Temperatur- und Feuchtigkeitsverhältnissen, noch in der allgemeinen Wetterlage und den Steig- und Fallgebieten des Luftdrucks ließ sich ein übersichtliches allgemeines Verhalten erkennen.

Dem somit im ganzen negativen Ausfall unserer Untersuchungen steht die durch das subjektive Gefühl gestützte Ansicht von der Bedeutung des Wetters entgegen. Wir können und wollen hier nicht behaupten, es bestehe gar kein derartiger Einfluß; er könnte uns ja entgangen sein aus verschiedenen Ursachen:

1. wenn die Wirkungen von vornherein nur ganz schwach sind und unter denen des Zufalls verschwinden; sie müßten dann um so schwächer sein, als wir uns alle Mühe gegeben haben, diesen letzten durch Anwendung möglichst scharfer Methoden einzuschätzen und auszuschalten;

2. wenn bei verschiedenen Teilen der beobachteten Gesamtheiten die äußeren Reize verschieden wirken, bald noch erregend, bald bereits lähmend. Hier muß die rein statistische Methode versagen, sie kann höchstens Fingerzeige geben für jenes Verfahren, von dem dann weitere Fortschritte zu erwarten sind, nämlich für das physiologische Experiment, das unter willkürlicher Veränderung eines bestimmten meteorologischen Elementes bei Gleichhaltung der übrigen anzustellen wäre. Sollen solche Versuche allgemeine Bedeutung haben, so muß ihnen natürlich eine größere Anzahl Personen unterworfen werden. Fiele dies auch ergebnislos aus, dann wäre noch als Erklärung denkbar:

3. wenn unserer Erfahrung bisher unzugängliche Witterungselemente oder Zusammenfassungen von solchen eine wesentliche Rolle spielen.

Einen ganz hervorragenden, überall durchschlagenden Einfluß der Witterung — das können wir nach unseren Untersuchungen mit Sicherheit aussprechen — gibt es aber nicht.

Zur Theorie der Serologie der Syphilis.

Von

Dr. **Emil Epstein** und Dr. **Fritz Paul**.

(Aus der Prosektur der Krankenanstalt „Rudolfsstiftung" (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. Richard Paltauf) und der Prosektur des Franz Josephspitals (Vorstand: Prof. Dr. Oskar Stoerk) in Wien.

(Bei der Redaktion eingegangen am 26. Oktober 1920.)

Die verschiedenen Flockungsreaktionen der Syphilis sind infolge ihrer einfachen Versuchsbedingungen eher geeignet, einen klaren Einblick in die physikalischen Vorgänge der serologischen Luesreaktionen zu gewähren als die ältere „Komplementbindungsreaktion" nach Wassermann.

Meinicke[1]) gab im Jahre 1917 seine zweizeitige Flockungsreaktion zur Diagnose der Syphilis (M.R.) bekannt, die er in der Folge durch eine Reihe von Veröffentlichungen weiter ausbaute[2]).

Diese gestaltet sich im wesentlichen folgendermaßen: Bestimmte Mengen der zu untersuchenden inaktivierten Sera werden mit alkoholischem „Pferdeherzätherrestextrakt"[3]), der vorher mit destilliertem Wasser in bestimmter Konzentration versetzt wird, gemischt und 24 Stunden im Brutschrank bei 37° belassen. Sowohl bei Normal- als auch bei Luesseren tritt Flockung ein. Sodann wird 2proz. Kochsalzlösung zugesetzt und nach einem weiteren einstündigen Aufenthalt der Versuchsröhrchen im Brutschrank bei 37° sind die Flocken bei Normalseren gelöst, während sie bei positiven Luesseren bestehen bleiben.

In Nr. 33 der Münch. med. Woch. 1919 veröffentlichte Meinicke die einzeitige Kochsalzmethode als dritte Modifikation seiner Präzipitationsreaktion (D.M.). Dabei fällt die erste Phase der M.R. weg: Bestimmte Mengen der durch Erwärmung auf 56° C inaktivierten Sera werden mit alkoholischem Pferdeherzextrakt vermischt, der aber vorher

1) Berl. klin. Wochenschrift 1917, Nr. 25.

2) Berl. klin. Wochenschrift 1917, Nr. 50, 1918, Nr. 4; Med. Klinik 1918, Nr. 36; Münchn. med. Wochenschrift 1918, Nr. 45, 49, 51; Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 27, Heft 4/6, Bd. 28, Heft 3/5.

3) Die Herstellung des Ätherrestextraktes wird weiter unten in Kürze beschrieben werden.

nicht, wie bei der M.R. mit destilliertem Wasser, sondern mit 2proz. Kochsalzlösung zu verdünnen ist. Nach 24stündigem Aufenthalt der Versuchsröhrchen im Brutschrank bei 37° erfolgt die Ablesung: Positive Sera sind geflockt, negative ungeflockt.

Es war für uns naheliegend, die Meinicke-Reaktion (M.R. und D.M.) zum Ausgangspunkt unserer theoretischen Beobachtungen zu machen, da wir die dritte Modifikation (D.M) der Meinicke-Reaktion als diagnostische Methode kennen und schätzen gelernt haben und sie seit einem Jahre praktisch anwenden.

Die Nachprüfung der D.M. an 2000 Fällen, die wir in Nr. 19 der Med. Klinik 1920 mitgeteilt haben, erwies eine weitgehende Übereinstimmung der Resultate mit den Ausfällen der W.R., in gewissen Stadien der Lues vielleicht sogar eine Überlegenheit gegenüber der W.R.

Unsere Erfahrungen an weiteren 7000 Vergleichsfällen, die wir seither gesammelt haben, bestätigen unsere ursprünglichen Feststellungen zur Gänze und werden den Gegenstand einer demnächst erscheinenden Mitteilung bilden.

Zur Theorie seiner Flockungsreaktionen stellte Meinicke selbst eine Reihe von Hypothesen auf, die er durch umfassende Versuche zu stützen suchte. In seinen ersten theoretischen Abhandlungen[1]) erklärt er seine Methode als Flockungsreaktion der als „Globulin" bezeichneten Eiweißphase des Serums von Luetikern, wobei der wesentliche Vorgang eine physikalische Änderung der Globuline sei, die in einer Abgabe von locker gebundenem Kochsalz durch Ionenwanderung besteht. „Bei positiven Seren wird dem Serumglobulin viel gebundenes Kochsalz in eingreifender, bei negativen wenig in schonender Form entzogen." Der bei allen Seren durch Zusatz des wässerigen Lipoidextraktes auftretende Flockungsniederschlag ist im Gegensatz zum Normalserum beim Luesserum kochsalzbeständig. Der zugesetzte Lipoidextrakt sei es also, durch dessen Einwirkung das Kochsalzgleichgewicht der Serumglobuline aufgehoben werde, wodurch es zu ihrer Ausflockung kommt. Dabei wirken einerseits die Extraktlipoide dispersitätsverringernd auf die Serumglobuline ein (Resultat: Ausflockung), anderseits die Serumstoffe dispersitätserhöhend auf das durch den Kochsalzzusatz in einem Zustand der Schwebefällung befindliche Extraktlipoid im Sinne eines starken Schutzkolloids.

Meinicke stützte diese Ansicht auf seine Versuche mit Sudanfärbung, indem er nachwies, daß der Niederschlag der ersten Phase seiner M.R. keine spezifische Lipoid- bzw. Fettfärbung annimmt, während sich der Niederschlag des spontan in Kochsalzverdünnung ausgeflockten Extraktes allein deutlich mit Sudan IV färbt. Von der Zuversicht in die Beweiskraft dieser Versuche ist Meinicke selbst in seinen letzten Arbeiten[2]) bereits merklich abgerückt. Doch steht er darin nach wie vor auf dem Standpunkt, daß irgendwie erhebliche Lipoidmengen nicht in den Globulin-

1) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 27, Heft 4/6, Bd. 28, Heft 3/5; Deutsche med. Wochenschrift 1919, Nr. 7, 12, 24, 30.
2) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 29, Heft 3/4.

niederschlag gehen, dieser also fast ausschließlich sowohl bei der M.R. als auch bei der D.M. aus Serumglobulin besteht.

Gleichzeitig veröffentlichte Joel[1]) seine Untersuchungen über die M.R. bei Dunkelfeldbeleuchtung, wonach er jedoch zu der Schlußfolgerung kommt, daß in der ersten Phase der M.R. auch Extraktlipoide in den Niederschlag gehen. Diese und eigene Untersuchungen veranlaßten Meinicke, seine ursprünglich angenommene, aber bald verlassene Theorie einer Lipoidbindung mit dem Serumglobulin wieder aufzugreifen und mit seiner Kochsalzwanderungstheorie zu verknüpfen[2]). Demnach bestünde der Hauptteil des Niederschlags sowohl in der ersten und zweiten Phase der M.R. als auch bei der D.M. der Hauptsache nach aus Serumglobulin mit geringer Beimengung von Extraktlipoiden.

Es wird sich aber in der Folge zeigen, daß die Vorgänge der ersten Phase der M.R. in wässerigem Medium und der zweiten Phase in kochsalzhaltigem Medium prinzipiell verschieden aufzufassen sind und daß sich die entscheidenden Reaktionsvorgänge gerade im kochsalzhaltigen Medium abspielen.

Meinicke hat in einer musterhaften Versuchsreihe die optimalen Bedingungen der Ausflockbarkeit seiner Lipoidextrakte mit verschiedenen Konzentrationen wässeriger Kochsalzlösungen ausgearbeitet, indem er zunächst die Reaktionsbreite der Ausfällbarkeit des Lipoidextraktes festgestellt hatte. Aus seinen Tabellen ergibt sich, daß der Extrakt beim längeren Abstehen in 2proz. Kochsalzlösung spontan ausflockt. Einzelne Extrakte zeigen dieses Phänomen ausgesprochener, andere in geringerem Grade. Meinicke zieht letztere Extrakte mit einem relativ höheren Dispersitätsgrade vor.

Im selben Sinne weist Hans Sachs[3]) neuerdings darauf hin, daß die nach seiner Vorschrift mit NaCl-Lösungen hergestellten Extraktkolloide, die durch langsames Vermischen des alkoholischen Extraktes mit Kochsalzlösung gewonnen wurden, eine mehr oder weniger milchig getrübte Flüssigkeit darstellen, während die durch rasches Vermischen gewonnenen, eine schwach opaleszierende Flüssigkeit bilden, und daß die ersteren für die Wassermann-Reaktion das bei weitem empfindlichere Reagens darstellen. Bei der engen Beziehung des Mechanismus der Wassermann-Reaktion und der Ausflockungsreaktionen ist die Feststellung wichtig, weil daraus hervorgeht, daß ein relativ gröberer disperser Zustand des Lipoidextraktes sich für diese Reaktionsgruppe als besonders wirksam erweist.

Der rigoros nach Meinickes Vorschrift[4]) bereitete Extrakt (Pferdeherzätherrestextrakt), den wir zu unseren Versuchsreihen verwendet[5]) und als vollwertig brauchbares Reagens für unsere serodiagno-

1) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. Bd. 29, Heft 3/4.
2) Deutsche med. Wochenschrift 1920, Nr. 37.
3) Kolloid-Zeitschr. 1919, Bd. 24, Heft 4.
4) 1 Teil Pferdeherzätherrestextrakt + ½ Teil destilliertes Wasser, dem nach einstündigem Stehen 7 Teile 2proz. Kochsalzlösung zugesetzt werden. — Münchn. med. Wochenschrift 1919, Nr. 33.
5) Med. Klinik 1920, Nr. 19.

stischen Zwecke erprobt hatten, zeigte schon ziemlich kurze Zeit nach Aufstellung der Extraktverdünnung ohne Serumzusatz spontane Ausflockung.

Die Beobachtung dieser Eigenausflockung des Meinicke-Extraktes, welche bei der D.M. nur durch den Zusatz von Normalserum, nicht aber durch Zusatz von Luesserum behindert wird, legt den Gedanken nahe, daß die ausgeflockten Substanzen vorwiegend dem Extrakt angehören und nicht Stoffe sind, die sich im Serum vorfinden. In Verfolgung dieses Gedankens und zur Aufklärung des Mechanismus der Reaktion stellten wir die im folgenden näher beschriebenen Versuche an. Um beweisende Versuchsergebnisse zu erhalten, sahen wir uns jedoch genötigt, unter Beibehaltung der relativen Mengenverhältnisse der einzelnen Reaktionsbestandteile nach Meinickes Originalvorschrift ihre absoluten Quanten zu vermehren.

Zunächst seien einige technische Details in Kürze erläutert:

1. Zur Bereitung der Extrakte.

Von Fett, Sehnen und Gefäßen befreites Pferdeherz wird fein geschabt, auf Glasplatten ausgestrichen, bei 50° getrocknet und zu einem feinen Pulver zerrieben. Zu einem Teil dieses Pulvers fügt man 9 Teile Äther, schüttelt eine Stunde, filtriert den Äther ab, trocknet den Rückstand bei 37° und extrahiert diesen dann mit 9 Teilen 95proz. Alkohol 3 bis 5 Tage bei 37° unter öfterem Umschütteln. Der darnach durch Filtrieren gewonnene, klare, alkoholische „Ätherrestextrakt" wird durch einen einfachen Vorversuch ausgewertet, indem man fallende Extraktmengen mit steigenden Alkoholdosen vermischt und je die halbe Menge destillierten Wassers rasch zufügt. Nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur setzt man die siebenfache Menge destillierten Wassers zu. Der beim ersten Wasserzusatz auftretender und beim zweiten Wasserzusatz bestehen bleibende Trübungsgrad erlaubt Rückschlüsse auf die Wirksamkeit des Extraktes und läßt die erforderliche Alkoholverdünnung ermitteln.

Über die genaueren Einzelheiten dieses Vorversuchs sei auf die Originalmitteilung Meinickes[1]) verwiesen.

Zur Anstellung der Versuche mischt man die erforderliche Extraktmenge (die man vorher auf die durch den Vorversuch ermittelte Alkoholkonzentration gebracht hat) mit der halben Menge destillierten Wassers und fügt dann für die zweite Modifikation Meinickes (M.R.) die siebenfache Menge destillierten Wassers, für die dritte Modifikation (D.M.) die siebenfache Menge 2proz. Kochsalzlösung zu. Wir nennen weiterhin der Kürze halber dieses Extraktkolloid in Wasser kurz Wasserextraktkolloid, das in Kochsalzlösung Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke.

2. Zur Anstellung der Versuche.

Zur Verwendung gelangten Extrakte, die in Kochsalzverdünnung (als Kochsalzextraktkolloid) spontan ausflockten und von Seren einerseits Luesseren, die bei der W.R. komplette Hemmung (++++), bei der Meinicke-Reaktion (D.M.) stärkste Ausflockung (+++) ergaben, also meist von unbehandelten sekundären Luesfällen herstammten, anderseits Normal-

1) Münchn. med. Wochenschrift 1919, Nr. 33.

seren, die sowohl bei der W.R. als bei der Meinicke-Reaktion (D.M.) vollkommen negativ reagierten und von Fällen entnommen worden waren, die weder klinisch noch anamnestisch irgendwelche Anhaltspunkte für bestehende oder überstandene luetische Infektion boten.

Von sämtlichen Seren wurden die Versuche doppelt aufgestellt, einmal im „aktiv" belassenen Zustande und einmal nach Erwärmung auf 56° C durch 15 Minuten, also im „inaktivierten" Zustande, ohne daß eine Differenz der Versuchsergebnisse zu konstatieren gewesen wäre.

Die Versuchsanordnung selbst findet sich in Tabelle I skizziert und gestaltet sich folgendermaßen:

I. a) 8 ccm Wasserextraktkolloid,

b) 8 ccm Kochsalzextraktkolloid werden ohne Zusatz von Serum aufgestellt. Das Wasserextraktkolloid zeigt auch nach langem (tagelangem) Stehen bei Zimmertemperatur oder 37° C keinerlei Ausflockung, das Kochsalzextraktkolloid hingegen flockt schon in wenigen Stunden sowohl bei Zimmertemperatur als auch bei 37° C spontan aus.

II. Je 2 ccm Luesserum (L.S.) und Normalserum (N.S.) werden mit je 8 ccm Wasserextraktkolloid gemischt und auf 24 Stunden in den Brutschrank bei 37° gebracht (erste Phase der M.R.).

In sämtlichen Versuchseprouvetten zeigt sich nach 24 Stunden ein kräftiger Flockungsniederschlag (Sera, die keine Flockung gaben, sind uns nicht untergekommen).

Bei Luesseren geht aber der Flockungsprozeß gleich nach Anstellung der Reaktion sehr lebhaft vor sich, so daß sich bereits nach 10 Minuten ein deutliches grobes Präzipitat abgesetzt hat.

III. Je 2 ccm Lues- und Normalserum werden, wie bei II, mit 8 ccm Wasserextraktkolloid gemischt, 24 Stunden im Brutschrank belassen (erste Phase der M.R.), sodann mit je 10 ccm 2proz. Kochsalzlösung versetzt und vorsichtig umgeschüttelt. Nach einem weiteren Aufenthalt von einer Stunde bei 37° im Brutschrank erfolgt die Ablesung, bei der sich die Flockung der Normalseren als aufgelöst erweist, während sie bei Luesseren, jedoch in geringerem Ausmaße, erhalten geblieben ist (zweite Phase der M.R.).

IV. Je 2 (4) ccm Lues- und Normalserum werden mit je 8 (16) ccm Kochsalzextraktkolloid vermischt und nach 24 Stunden bei 37° abgelesen. Luessera zeigen kräftige Flockung, bei Normalseren bleibt die Flüssigkeit homogen milchig getrübt (D.M.).

Die Ergebnisse unserer im folgenden näher beschriebenen Versuche gaben zu den gleichfalls im nachstehenden erörterten weiteren Untersuchungen Anlaß:

Ad I der Tabelle.

Der Zusatz von alkoholischem Pferdeherzätherrestextrakt zu 2 bis 3proz. NaCl-Lösung in dem von Meinicke vorgeschriebenen Mengenverhältnis von 1:8 („Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke") ergibt nach längerem Stehen bei Zimmertemperatur und bei 37° im Brutschrank spontane Flockenbildung im Gegensatz zum „Wasserextraktkolloid", das auch bei tagelangem Stehen homogen

milchig getrübt bleibt. Der nach scharfem Zentrifugieren gewonnene Niederschlag wird in 95proz. Alkohol aufgenommen und am Wasserbad bis zum Sieden erhitzt. Dabei geht der gesamte Niederschlag in Lösung, besteht demnach aus Lipoiden.

Ad II der Tabelle.

Der Zusatz von alkoholischem Pferdeherzätherrestextrakt in wässeriger Emulsion („Wasserextraktkolloid nach Meinicke") zum Serum hat sowohl bei Anwendung von Normal- als auch von Luesseren innerhalb 24 Stunden bei 37° starke Ausflockung zur Folge. Ein Unterschied macht sich jedoch, wie bereits erwähnt, insoferne bemerkbar, als diese Ausflockung bei Anwendung von Luesseren innerhalb der ersten 10 Minuten rascher und deutlicher einsetzt als bei Seren Nichtluetischer. Die nach scharfem Zentrifugieren über dem Niederschlag stehende klare Flüssigkeit wird abgegossen, der Niederschlag mehrmals vorsichtig mit destilliertem Wasser serumfrei gewaschen, bis das Waschwasser keine Eiweißreaktion mehr gibt (geprüft mit Sulfosalizylsäure, Essigsäure-Ferrozyankalium, Biuretreaktion), der Niederschlag wird mit 95proz. Alkohol übergossen, durch Schütteln gut gemischt und am Wasserbad zum Sieden erhitzt. Dann wird abermals zentrifugiert. Es zeigt sich zunächst starke Koagulation des Niederschlages. Der Niederschlag besteht demnach zum größeren Teile aus Eiweißkörpern. Anderseits hat jedoch die Niederschlagsmenge eine deutliche Volumsverminderung erfahren, was aus einem Vergleiche mit einem parallel aufgestellten Versuchsröhrchen ohne Alkoholbehandlung ersichtlich ist. Versetzt man jetzt die vom Zentrifugate abgegossene alkoholische Flüssigkeit tropfenweise mit destilliertem Wasser, so zeigt sich deutliche Trübung, welche beweist, daß Lipoide in Lösung gegangen sind. (Um dieses Phänomen der Trübung noch deutlicher zu machen, dampft man die alkoholische Flüssigkeit am Wasserbade auf ein Viertel ihres Volumens ein.)

Der ursprüngliche Flockungsniederschlag besteht also vorwiegend aus Eiweißkörpern, zum Teile aber auch aus Lipoiden.

Ad III der Tabelle.

Die unter III. besprochenen Niederschläge, bei Zusatz von Normalserum, lösen sich in entsprechenden Mengen 2proz. Kochsalzlösung komplett auf, d. h. die Flüssigkeit wird wieder homogen milchig getrübt, ohne daß auch bei Lupenvergrößerung Präzipitation erkennbar wäre, während bei Luesserum die Flockung, wenn auch in geringerem Ausmaße bestehen bleibt. Der sich nach Zentrifugieren absetzende Niederschlag weist aber gegenüber einem Vergleichsröhrchen, welches den Flockungsniederschlag von Luesserum + Wasserextraktkolloid am Ende der ersten Phase der M.R., also noch ohne Zusatz von 2proz. Kochsalzlösung enthält, eine deutliche Volumsverminderung auf. Der Niederschlag wird, wie unter II., jedoch in 2proz. Kochsalzlösung, solange gewaschen, bis das Waschwasser keinerlei Eiweißreaktion gibt, in 95proz. Alkohol aufgenommen und am Wasserbade zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag geht im Gegensatz zu dem ursprünglichen, unter II. besprochenen

Tabelle I.

$H_2O \cdot OE$ = Wasserextraktkolloid nach Meinicke.
NaCl OE = Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke.
LS = Luesserum.
NS = Normalserum.

I.	a) 8 ccm $H_2O \cdot OE$	a) Keinerlei Ausflockung auch nach langem Stehen bei Zimmertemperatur und bei 37°.
	b) 8 ccm $NaCl \cdot OE$	b) Spontane Ausflockung (++) schon in wenigen Stunden.
II.	M. R. (II. Modifikation) I. Phase 2 (4) ccm LS + 8 (16) ccm $H_2O \cdot OE$	nach 10′ ++ nach 24 h +++
III.	M. R. (II. Modifikation) II. Phase 2 ccm LS + 8 ccm $H_2O \cdot OE$ + 10 ccm 2% Kochsalzlösung [1])	+ bis ++
IV.	D. M. (III. Modifikation) 2 (4) ccm LS + 8 (16) ccm $NaCl \cdot OE$	nach 24 h +++

1) Die Mischung 2 ccm LS bzw. 2 ccm NS + 8 ccm $H_2O \cdot OE$ bleibt NaCL-Lösung zugesetzt. Die Ablesung erfolgt nach einer weiteren Stunde

Niederschlage, vollkommen in Lösung, besteht demnach ausschließlich aus Lipoiden.

Ad IV der Tabelle.

Luesseren mit Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke in entsprechender Menge versetzt geben einen grobflockigen Niederschlag. Dieser Niederschlag wird wie unter III. mit 2proz. Kochsalzlösung gewaschen, in Alkohol aufgenommen und zum Sieden erhitzt. Der Niederschlag löst sich fast vollständig auf, besteht demnach fast zur Gänze aus Lipoiden. Es restieren meist nur spärliche Flöckchen, manchmal auch etwas reichlichere Krümelchen. Dieser minimale zartkrümelige Bodensatz wird durch mehrfaches Zentrifugieren mit Wasser oder Kochsalzlösung gewaschen, hierauf zur Anstellung der Biuretreaktion mit 33proz. Natronlauge übergossen und mit 0,1proz. Kupfersulfatlösung überschichtet. Die Biuretreaktion fällt negativ aus. Der Niederschlag löst sich in Natronlauge nur schlecht. Es restiert vielmehr ein gallertartiger Bodensatz, welcher aus schwerlöslichen Salzen bestehen dürfte.

Normalseren mit Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke gemischt geben keinerlei Niederschlag.

* * *

Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß die Theorie Meinickes, daß es sich bei seiner Reaktion um eine Globulinflockung durch Störung des Kochsalzgleichgewichtes der Globuline

Tabelle I.

+ ganz zarte körnelige Flockung.
++ deutliche Flockung.
+++ grobe Flockung.

		b) Der Flockungsniederschlag besteht ausschließlich aus alkohollöslichen Lipoiden.
M. R. (II. Modifkation) I. Phase 2 (4) ccm NS + 8 (16) ccm HgO · OE	nach 10′ ± nach 24 h +++	Der Flockungsniederschlag besteht a) aus Eiweißsubstanz koaguliert in heißem Alkohol, b) aus alkohollösl. Lipoiden.
M. R. (II. Modifikation) II. Phase 2 ccm NS + 8 ccm H_2O · OE + 10 ccm 2% Kochsalzlösung[1])	Flockung gelöst	Der Flockungsniederschlag bei Luesserum besteht aus alkohollöslichen Lipoiden.
D. M. (III. Modifikation) 2 (4) ccm NS + 8 (16) ccm H_2O · OE	nach 24 h keine Flockung	Der Flockungsniederschlag bei Luesserum besteht aus alkohollöslichen Lipoiden.

zunächst 24 Stunden bei 37° im Brutschrank, hierauf werden 10 ccm 2proz. bei 37°.

handelt, nicht richtig fundiert sein kann, da die sowohl in der zweiten als auch in der dritten Modifikation bei Luesseren differentialdiagnostisch in Betracht kommenden Niederschläge zum allergrößten Teil mit Eiweißkörpern nichts zu tun haben, sondern aus alkohollöslichen Lipoiden bestehen. Auch die jüngst veröffentlichten Beobachtungen Joels (l. c.) zur Theorie der Meinickeschen Reaktion im Dunkelfeld bestätigen diese Befunde.

Diese Konstatierung ist übrigens in keiner Weise überraschend, da nach der vorliegenden Literatur gar nichts anderes zu erwarten war, als daß die Seren Luetischer zugesetzte Lipoidsuspensionen zur Ausflockung bringen (Landsteiner[1]), Elias, Neubauer, Porges und Salomon[2]) u. a.).

Die ausgeflockten Lipoide gehören nach der quantitativen Mächtigkeit des Flockungsniederschlages wohl hauptsächlich den Lipoiden des Organextraktes und zum geringsten Teile möglicherweise auch den Eigenlipoiden des Serums an. Daß diese Ansicht richtig ist, wird weiterhin dadurch bestätigt, daß der Meinicke-Extrakt an und für sich, in 2proz. Kochsalzlösung allmählich und, wie Meinicke neuerdings nachgewiesen hat, in 3 bis 5proz. Kochsalzlösung rascher spontan ausflockt. Es ergibt sich also das interessante, bisher ganz unbekannte Phänomen, daß Normalseren die Spontanausflockung der Extraktlipoide verhindern, während Luesseren sie beschleunigen und deutlich intensiver gestalten.

1) **Finger**, Handbuch der Geschlechtskrankheiten, S. 2358 bis 2405.
2) Wiener klin. Wochenschrift 1908, Nr. 21.

Wenn wir die Vorgänge, welche diese Reaktionen herbeiführen, dem Verständnisse näherbringen wollen, so ist es notwendig, sich zunächst eine Vorstellung von der physikalischen Beschaffenheit des in Anwendung gezogenen Kochsalzextraktkolloids zu bilden. Es stellt wohl zweifellos ein komplexes Dispersoid vor, welches vermutlich eine Kombination von Suspensions- und Emulsionsdispersoid bildet. Das geht daraus hervor, daß das einstündige Ausschütteln des Pferdeherzpulvers bei Zimmertemperatur mit Äther wohl kaum das gesamte Cholesterin, noch weniger aber das Lezithin zu entfernen imstande ist. Es handelt sich vielmehr vermutlich im wesentlichen um ein Gemenge von Cholesterin, ungesättigten lezithinähnlichen Lipoiden und gesättigten Phosphatiden. (Erlandsen stellt aus Muskelsubstanz Diaminophosphatide dar, welche der Gruppe der gesättigten Phosphatide angehören[1]).) Die chemische Beschaffenheit [2]) hat zur ganzen Frage des Mechanismus der kolloidalen Reaktionsfähigkeit des Extraktkolloids insofern eine gewisse Beziehung, als wir wissen, daß Cholesterinaufschwemmungen im wesentlichen die Eigenschaften von Suspensoiden, Lezithin-Aufschwemmungen hingegen mehr die Eigenschaften von Emulsoiden (hydrophilen Kolloiden) aufweisen (Porges und Neubauer[3])). Der Dispersitätszustand dürfte im allgemeinen an der Grenze zwischen grobdispersem und kolloidalem Dispersionsgrad stehen, somit einem recht labilen kolloidalen Gleichgewichtsverhältnisse entsprechen, da bei der größeren Zahl der von uns untersuchten Extrakte schon bei längerem Stehen bei Zimmertemperatur eine Eigenausflockung in 2 bis 3proz. Kochsalzlösung erfolgt. — Es sei hier nochmals an die Feststellung von Hans Sachs erinnert, der seine milchig getrübten, also gröber dispersen Extraktmischungen als für die Wassermannsche Reaktion geeigneter bezeichnet als die feiner dispersen, opaleszierenden Mischungen. Die besondere Empfindlichkeit der Extrakte und ihr charakteristisches Verhalten bei Zusatz von Normal- und insbesondere von Luesserum beruht höchstwahrscheinlich in dem zufällig getroffenen Mengenverhältnisse der einzelnen Extraktkomponenten (Lipoide). Der Dispersitätsgrad verschiedener Lipoide im cholesterinhaltigen Dispersionsmittel ist z. B. ein ganz anderer als im cholesterinfreien. Cholesterin, in organischen Lösungsmitteln gelöst, stellt nach Fränkel ein ganz ausgezeichnetes Lösungsmittel für die übrigen Lipoide dar, so daß es sehr schwierig ist, das Cholesterin aus solchen Lipoidgemischen zu entfernen[4]). Die komplexe Zusammensetzung der verschiedenen dispersen Phasen unseres Extraktes und ihr gegenseitiges Mengenverhältnis scheint die Vorbedingung des Erfolges zu sein.

---

1) Zitiert nach Fränkel: „Darstellung von Lipoiden aus Gehirn und anderen Geweben." Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden, Bd. V, 1. Th., S. 613 u. ff.

2) Der eine von uns ist mit dem Studium der chemischen Zusammensetzung des Extraktes beschäftigt.

3) Biochem. Zeitschr. 1907, Bd. 7, Heft 1 bis 2.

4) Über Lipoide. Biochem. Zeitschr. 1909, S. 254 ff.

Sachs und Rondoni[1]) zeigten, daß auch bei den Extrakten für die Wassermann-Reaktion nicht einzelne Lipoide, sondern eine optimale Zusammensetzung verschiedener Lipoidstoffe für die Wirkung verantwortlich zu machen seien.

Ostwald[2]) betont die besondere Variabilität des dispersen Zustandes gerade komplexer Dispersoide gegenüber Temperatur, Konzentration usw., welcher wohl die gesteigerte Empfindlichkeit dieser Dispersoide in bezug auf ihre Ausflockbarkeit entspricht. Der Meinicke-Extrakt stellt vermutlich ein solches komplexes Lipoiddispersoid vor, in welchem verschiedene disperse Phasen in einem keineswegs einheitlichen Dispersionsmittel dispergiert erscheinen. Wir können uns ganz gut vorstellen, daß eine disperse Lipoidphase selbst, z. B. eine cholesterinhaltige Phase das Dispersionsmittel für andere disperse Lipoidphasen darstellt. Es sind dies jedesfalls komplizierte Verhältnisse, welche durch systematische künstliche Mischungen kaum je zu erzielen sein werden. Es wird daher wohl noch lange Sache des empirischen Tastversuches bleiben, richtige Extraktbeschaffenheit zu ermitteln, und es ist nicht das geringste Verdienst Meinickes, diesen Weg bei der Herstellung und Auswertung seines Extraktes betreten zu haben.

Daß Zusätze von Cholesterin, wie sie nach Sachs und Georgi angewendet werden, in der Hand des besonders versierten Untersuchers gelegentlich zu einwandfreien Resultaten führen können, zeigen die Erfolge der Methode bei Sachs u. a., daß aber das Arbeiten mit cholesterinierten Extrakten nach Sachs und Georgi nicht die Idealmethode im allgemeinen darstellt, dafür liegen die zahlreichen Arbeiten anderer Autoren über diese Methode Zeugnis, welche nicht immer zu besonders ermunternden Ergebnissen geführt haben.

Zu dem Punkte der Relation der Reaktionsfähigkeit der Extrakte zu ihrer feineren Lipoidzusammensetzung sei auf die Arbeit Silbersteins[3]) hingewiesen, welcher zeigte, „daß mazerierte und autolysierte Organe deshalb wirksamere Antigene für die Wassermannsche Reaktion geben als frische, weil in ihnen Lipoide, Seifen, Fettsäuren, Neutralfette und Cholesterine in einem bestimmten Mengenverhältnisse zueinander stehen". Die bereits erwähnten, im Gange befindlichen chemischen Untersuchungen werden zeigen, ob in Extraktkolloiden nach Meinicke neben den Lipoiden, welchen wohl die wichtigste Rolle bei den in Rede stehenden Reaktionen zufällt, noch Seifen und Fette vorhanden sind.

Über die elektrischen Ladungsverhältnisse der Lipoide, die weiter unten noch ausführlicher besprochen werden sollen, sei hier nur soviel gesagt, daß nach den Feststellungen von Porges und Neubauer (l. c.) Lipoidsuspensionen, sowohl Cholesterin- als Lezithin-Aufschwemmungen anodische Konvektion besitzen, somit elektronegative Ladung aufweisen. „Was die Säurefällbarkeit und Alkalilöslichkeit der

1) Berl. klin. Wochenschrift 1908, Nr. 44.
2) Grundlagen der Kolloidchemie. 1914.
3) Biochem. Zeitschr. Bd. 88, Heft 1 bis 3.

Lezithin- und Cholesterinsuspensionen anlangt, so beweist sie ihre anodische Konvektion."

Nachdem wir uns so über den physikalischen Zustand des Kochsalz-Extraktkolloids nach Meinicke orientiert haben, ist es notwendig, uns auch mit der zweiten Komponente der bei der Ausflockung reagierenden, kolloidalen Lösung, dem Serum, in Kürze zu beschäftigen. Sowohl Lues- als Normalseren stellen komplexe Dispersoide dar, in welchen neben der Eiweißphase, die selbst wieder einen komplexen Bau aufweisen mag, auch noch eine Lipoidphase vorhanden ist.

Vieles deutet darauf hin, daß sich die Eiweißphase der Luesseren wesentlich durch ihre elektrischen Ladungsverhältnisse von der Eiweißphase der Normalseren unterscheidet. Schon Elias, Neubauer, Porges und Salomon (l. c.) schlossen daraus, daß Luesseren mit elektrisch negativ geladenen Lezithinsuspensionen ausflocken, daß diese Seren gegenüber Normalseren eine erhöhte Azidität bzw. herabgesetzte Alkaleszenz aufweisen dürften, da bekanntlich vermehrter Säuregehalt auf Eiweißlösungen unter Umständen positivierend wirkt. Da sie jedoch einerseits nicht imstande waren, eine Aziditätszunahme der Luesseren titrimetrisch nachzuweisen, und es ihnen anderseits auch nicht gelang, Normalseren durch Säurezusatz mit Lezithin zur Ausflockung zu bringen, so glaubten sie, diese Ansicht fallen lassen zu müssen, und faßten die Luesreaktion als eine „kolloidale Fällungsreaktion zwischen gewissen hydrophilen Kolloiden" (Lezithinsuspension, Lipoidextrakten usw.) „und den Globulinen zuzurechnenden Eiweißkörpern" auf, die im Luesserum infolge geringerer Stabilität eine größere Fällungszone verursachen". Es gelang ihnen aber nicht, durch Fällungsversuche mit gesättigter Ammonsulfatlösung Unterschiede in den Fällungsgrenzen zwischen Normal- und Luesseren nachzuweisen. Wenn wir uns demgegenüber vor Augen halten, daß Aziditätszunahmen des Serums bei seinem starken Bindungsvermögen für H- und OH-Jonen der Feststellung durch titrimetrische Methoden keineswegs zugänglich zu sein brauchen (Eichwald und Fodor[1]), und uns vergegenwärtigen, daß die Ausflockung zwischen Eiweißphase und Organlipoidphase nach den allgemeinen Flockungsgesetzen der Kolloide ohne entgegengesetzte Ladung nicht gedacht werden kann, so werden wir wohl in der Annahme nicht fehlgehen, daß eine elektropositive Ladung der Luesseren (und damit eine relative Aziditätserhöhung) in Gegenwirkung zur elektronegativen Ladung der Lipoidphase zur Geltung kommen müsse. Much und Embden[2]) haben übrigens eine tatsächlich nachweisbare Aminosäurevermehrung luetischer Seren mit dem positiven Ausfalle der Wassermann-Reaktion in Zusammenhang gebracht.

Überdies zeigten zwar Sachs und Altmann[3]) bezüglich der Wassermannschen Reaktion, daß Normalseren mit negativer W.R. auch

1) Die physikalisch-chemischen Grundlagen der Biologie. Berlin 1919. S. 19↑.
2) Münchn. med. Wochenschrift 1914, Nr. 13, S. 730.
3) Biochem. Zeitschr. 78, 46.

nach Säurezusatz nicht positiv reagieren, anderseits aber, daß negativ reagierenden syphilitischen Seren durch entsprechenden Säurezusatz eine positive Reaktion erteilt werden kann. Daraus geht aber unserer Ansicht nach hervor, daß eine Vermehrung des Aziditätsgrades allein keineswegs genüge, um die Reaktionsfähigkeit der Seren mit negativen Lipoidkolloiden auszulösen, sondern daß ganz bestimmte, für Lues charakteristische Ladungsverhältnisse die Vorbedingung der positivierenden Wirkung der zugesetzten Säure ist. Die Auffasung, daß die Seren Syphilitischer elektropositive Ladung abgeben müssen, um mit den negativ geladenen Lipoidkolloiden reagieren zu können, wird auch durch Versuche bestätigt, auf die später eingegangen wird. Im Gegensatz zu dem elektrischen Ladungszustande der Eiweißphase der Luesseren ist die Eiweißphase der Normalseren nach Pauli[1]) als elektrisch-neutral bzw. schwach negativ geladen anzusehen. (Vgl. hiezu auch das instruktive Schema l. c. S. 28.)

Mit dem Auftreten positiver Ladungen im Luesserum geht eine Zunahme der Oberflächenspannung infolge gleichzeitigen Auftretens entgegengesetzt elektrischer Ladung der elektronegativen Lipoidphase der Luesseren Hand in Hand. Es muß nämlich hervorgehoben werden, daß nach Feststellungen von Sachs[2]), Klausner[3]) und v. Friedmann[4]) auch die Lipoide im Luesserum eine besondere Rolle spielen. Durch das Auftreten entgegengesetzter Ladungen kommt es zu einer Erhöhung der positiven Oberflächenspannung der Eiweiß- und Lipoidphase, mit welcher eine Vergröberung des dispersen Zustandes der Phasen der Luesseren verbunden ist. Diese Zustandsänderung, die auch eine gesteigerte Eiweißflockbarkeit zur Folge hat, wie sie in der Klausnerschen Flockungsreaktion zum Ausdrucke kommt, gab vielfach Anlaß, eine Vermehrung der Globuline für alle möglichen Ausflokkungsvorgänge verantwortlich zu machen. Überhaupt muß bei dieser Gelegenheit gegen den ganz allgemeinen Brauch Stellung genommen werden, Eiweißkörper, die sich im Zustande erhöhter Flockbarkeit befinden, ohne weiteres als „Globuline" zu bezeichnen und jede Zunahme der Flockbarkeit im eiweißhaltigen Medium mit Globulinen in Zusammenhang bringen zu wollen. Zur Bekräftigung unseres Standpunktes sei die Arbeit Wilheims und Obermeyers[5]) angeführt, welche imstande waren, eine Steigerung der Ausflockbarkeit der Eiweißkörper durch chemische Prozesse herbeizuführen, ohne daß die auf diesem Wege gewonnenen, leicht ausflockbaren Eiweißkörper mit den als „Glo-

1) Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiologie u. Pathologie. 1906. Ferner Pauli, Kolloidchemie der Eiweißkörper 1920. 1. H., S. 20.

2) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 1917, Bd. 26, S. 451.

3) Wiener klin. Wochenschrift 1912, Nr. 21.

4) Zeitschr. f. Hygiene 1910, Bd. 67, und Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 1912. Bd. 14.

5) Biochem. Zeitschr. 1912, Bd. 38, Heft 3/4.

6) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 1920, Bd. 29, Heft 3 und 4.

bulinen" bezeichneten, chemisch charakterisierten Eiweißkörpern irgendetwas gemein hätten. Gloor und Klinger[6]) weisen nach, daß positive Luesseren auch nach Entfernung der Globuline noch positiv reagieren, so daß sie in ihren weiteren Folgerungen zur Annahme gelangen, daß die Albumine und nicht die Globuline die Träger der charakteristischen Präzipitationsvorgänge seien. Die auf der Anwesenheit labiler Globuline beruhenden Präzipitationsvorgänge seien hingegen für Lues nicht charakteristisch. Auch Mandelbaum[1]) zeigte jüngst, daß die Seren Luetischer nach Entfernung der Globuline mit cholesteriniertem Herzextrakt nach Sachs und Georgi deutlich präzipitieren. Mandelbaum gibt der Vermutung Ausdruck, daß nicht die Globuline es sind, die bei der Sachs-Georgischen Reaktion ausfallen, sondern die Lipoide, ohne jedoch seine Ansicht experimentell weiterhin zu stützen. Wir werden in der Folge sehen, daß bei den serologischen Syphilisreaktionen nicht den Eiweißkörpern die Hauptrolle bei den Flockungsvorgängen zukommt, sondern vielmehr der Lipoidphase der zugesetzten Extrakte.

Wenn wir uns also im vorhergehenden ganz im allgemeinen eine Vorstellung über die physikalische Beschaffenheit der Lipoidphase und der physikalischen Zustandsänderung des Serums bei Lues gebildet haben, so ist es nunmehr von besonderem Interesse, das Augenmerk unserem speziellen Falle zuzuwenden und eine Erklärung für die interessante Tatsache der Meinicke-Reaktion (D.M.) zu versuchen: sie besteht im wesentlichen darin, daß **Normalseren die Ausflockung des Kochsalz-Extraktkolloides nach Meinicke verhindern, während Luesseren den Prozeß beschleunigen und verstärken.**

Suchen wir nun schrittweise für den Mechanismus dieser Vorgänge eine befriedigende Erklärung zu finden.

Ad I der Tabelle. a) wässeriges Extraktkolloid.

Es sei zuächst der Zustand der Lipoidphase im elektrischneutralen Wasser in Betracht gezogen. Die aus elektronegativen Phasenteilchen zusammengesetzte Lipoidphase hält sich durch die gleichartige elektrische Ladung, die im Sinne einer gegenseitigen Abstoßung wirkt, im Gleichgewichte. Dementsprechend flocken die wässerigen Extraktemulsionen nicht aus und halten sich lange im kolloidalen Gleichgewichtszustande.

b) Kochsalzextraktkolloid.

Dieser Gleichgewichtszustand wird aber durch Zusatz der 2 bis 3proz. Kochsalzlösung gestört. Die Kochsalzlösung befindet sich, wie aus den Reihenversuchen Meinickes hervorgeht, gerade in der Konzentration zwischen 2 bis 5% in dem auf die Lipoidphase eingestellten elektrolytischen Dissoziationszustand. Zur Wirkung gelangen nach einem kolloidchemischen Gesetze (Bechthold[2])) überwiegend die dem Ladungszustande der Lipoidphase entgegengesetzt geladenen Jonen der Elektrolyten, also die Natriumionen. Die vorhandene Ladungsdifferenz zwischen

1) Münchn. med. Wochenschrift 1920, Nr. 33, S. 962.
2) Die Kolloide in Biologie und Medizin. 1919. S. 91.

elektronegativer Lipoidphase und den elektropositiven Natriumionen führen zu einer konstant steigenden Zunahme der Oberflächenspannung durch kontinuierliche Ladungsabgabe bis zu dem Grade, bei dem dann die vollkommene Entladung und als letzte Konsequenz, im isoelektrischen Zustande, die Ausflockung erfolgt. Auf dem Wege bis dahin dürfte es bei dem komplexen Bau der Lipoidphase zur Vereinigung einzelner, etwa der zartesten Teilchen der Lipoidphase, zu Kondensationsvorgängen kommen, die das Zusammenfließen dieser kleinsten Phasenteilchen zu größeren Komplexen zur Folge hat, wodurch der disperse Zustand der Lipoidphase sich immer mehr und mehr vergröbert. Aus dieser Darlegung geht hervor, daß die Reaktion eine gewisse Ablaufzeit erfordert. Dies zu betonen, ist deshalb wichtig, weil in der Beschleunigung, sowie in der Verzögerung der physikalischen Zustandsänderungen vielfach das Wesen derartiger Reaktionen zu suchen ist. Mit anderen Worten: Der positive Ausfall physikalisch-chemischer Reaktionen ist durch eine ganz bestimmte Ablaufzeit charakterisiert. Der negative Ausfall ist häufig durch ein oft vielfaches Multiplum dieser Ablaufzeit gekennzeichnet, d. h. die Reaktion tritt häufig sehr verzögert, aber endlich dennoch ein.

Ad II der Tabelle. I. Phase der zweiten Modifikation (M.R.).

Die Ausflockungsvorgänge bei der ersten Phase der zweiten Modifikation (M.R.) nach Zusatz der Seren zum Wasserextraktkolloid gestalten sich folgendermaßen: Durch Verdünnen der Eiweißlösung mit wässerigem Extraktkolloid, also mit Wasser als Suspensionsmittel, tritt sowohl bei Lues- als bei Normalserum eine Salzverarmung der Eiweißphase ein. Als Folge dieser Salzentziehung und der damit einhergehenden Änderung der Oberflächenspannungsverhältnisse zwischen Eiweißphase und wässerigem Suspensionsmittel kommt es zur Ausflockung eines Teiles der Eiweißphase (Ausflockung der wasserunlöslichen „Globuline"). Hand in Hand mit diesen auf Veränderung der Oberflächenspannungsverhältnisse beruhenden Flockungsvorgängen geht Adsorption der im wässerigen Suspensionsmittel gleichfalls suspendierten Lipoidphase des Extraktkolloids vor sich, die sowohl bei Lues- als bei Normalserum erfolgt. Das auffällige Phänomen der Beschleunigung der Ausflockung der Luesseren in den ersten 10 Minuten nach Zusatz des Serums zu Wasserextraktkolloid erklärt sich durch das vermehrte Auftreten positiver Ladungen in Luesseren, welche auf die Lipoidphase im Sinne einer beschleunigten Ausflockung wirkt, so daß hier neben den Adsorptions- direkte Ausflockungsvorgänge der Lipoide eine wichtige Rolle spielen.

Ad III der Tabelle. II. Phase der zweiten Modifikation (M.R.).

Wenn wir die durch Zusatz von Wasserextraktkolloid ausgeflockten Proben nach der Vorschrift Meinickes mit 2 bis 3proz. Kochsalzlösung versetzen, so zeigt sich nach einstündigem Verweilen im Brutschrank

a) bei Normalserum vollkommene Auflösung des Präzipitates,

Tabelle II.

NaClOE = Kochsalzextraktkolloid nach Meinicke.
LS = Lusserum.
NS = Normalserum.

0,8 ccm NaClOE +	0,05 ccm NS	0,1 ccm NS	0,15 ccm NS	0,2 ccm NS
Ablesungsresultat:	—	—	—	—
0,8 ccm NaClOE +	0,05 ccm LS	0,1 ccm LS	0,15 ccm LS	0,2 ccm LS
Ablesungsresultat:	+++	+++	+++	+++
0,8 ccm NaClOE + 0,2 ccm NS +	0,05 ccm LS	0,1 ccm LS	0,15 ccm LS	0,2 ccm LS
Ablesungsresultat:	+++	+++	+++	+++
0,8 ccm NaClOE + 0,05 ccm LS +	0,05 ccm NS	0,1 ccm NS	0,15 ccm NS	0,2 ccm NS
Ablesungsresultat:	+++	+++	+++	+++

Die Ablesung erfolgt nach 24stündigem Verweilen der Proben im Brut-

b) bei Luesserum Auflösung nur eines Teiles des Niederschlages; ein Teil des Niederschlages bleibt ungelöst.

Durch Zusatz von 2 bis 3proz. Kochsalzlösung löst sich sowohl bei a) als bei b) die durch Salzentziehung verursachte reversible Eiweißflockung („Globulinflockung"). Bei a) löst sich der entstandene Niederschlag vollkommen, weil bei Lösung des Eiweißniederschlages das durch Adsorption mitgerissene elektronegative Lipoid wieder in Suspension geht. (Die Rolle, welche die gelöste Eiweißphase des Normalserums als Schutzkolloid übernimmt, wird bei Punkt IV besprochen.) Bei b) bleibt aber ein Teil des Niederschlages erhalten, der, wie wir durch seine Löslichkeit in heißem Alkohol gezeigt haben, aus Lipoiden besteht.

Die ursprünglich elektronegativ geladene Lipoidphase gelangt durch die positive Ladung des Luesserums teilweise ihrer Ladung beraubt, unter Wirkung der elektropositiven Ladung der Natriumionen und wird auf diese Weise vollkommen entladen, also irreversibel ausgeflockt. Eine schützende Wirkung, wie sie Normalseren ausüben, kommt bei Luesseren nicht zur Geltung (näheres bei folgendem Punkt IV).

Ad IV der Tabelle. Dritte Modifikation (D.M.).

Bevor auf die Besprechung der Flockungsvorgänge der dritten Modifikation der Meinicke-Reaktion (D.M.) eingegangen wird, deren Endreaktion wesentlich der Endreaktion der zweiten Phase der zweiten Modifikation der M.R. entspricht, sei hier in Kürze dargestellt, wie wir uns die elektrochemischen Ladungsverhältnisse der Eiweißphase bei Normal- und Luesseren vorstellen. Normale Seren sind amphoter, resp. schwach negativ geladene Eiweißlösungen, in denen sich elektronegative Ionen und elektropositive Ionen (Wasserstoffionen) nahezu das Gleichgewicht halten. Die Ladung des Eiweißmoleküls

Tabelle II.

— = keine Flockung.
\+ = ganz zarte körnelige Flockung.
++ = deutliche Flockung.
+++ = grobe Flockung.

					Kontroll-röhrchen
0,25 ccm NS	0,3 ccm NS	0,35 ccm NS	0,5 ccm NS	0,8 ccm NS	0
—	—	—	—	—	++
0,25 ccm LS	0,3 ccm LS	0,35 ccm LS	0,5 ccm LS	0,8 ccm LS	0
+++	+++	+++	+++	++	++
0,25 ccm LS	0,3 ccm LS	0,35 ccm LS	0,5 ccm LS	0,8 ccm LS	0
+++	+++	+++	++	++	—
0,25 ccm NS	0,3 ccm NS	0,35 ccm NS	0,5 ccm NS	0,8 ccm NS	0
+++	+++	+++	++	++	++

schranke. (37° C.)

im Kerne ist gleichfalls eine amphotere. Im Luesserum kommt es jedoch zum Überwiegen elektropositiver Ionen. In diesem Sinne wären die bereits erwähnten Feststellungen von Much und Embden (l. c.) zu verwerten, daß im Luesserum vermehrte Aminosäuren auftreten. Durch die Wasserstoffionen dieser Aminosäuren käme es unter Zurückdrängung der Ionisation der eigenen Wasserstoffionen des Eiweißmoleküles zum Überwiegen einer positiven Ladung in seinem Kerne. Das positiv geladene Eiweißmolekül, vereint mit den verfügbaren Wasserstoffionen der Aminosäuren, wirkt somit auf die negativ geladene Lipoidphase entladend.

a) Verhalten von Normalserum im Kochsalzextraktkolloid.

Setzen wir also zu Kochsalzextrakt Normalserum zu, so fügen wir eine elektrisch-amphotere Eiweißphase und in geringer Menge eine elektrisch-negativ geladene Phase des Serumeigenlipoids zu. Die Lipoidphase des Serums verstärkt noch die Wirkung der negativen Ladung der Extraktlipoide und erhöht die Spannungsdifferenz zwischen den elektrisch entgegengesetzt geladenen Teilchen der Extraktlipoidphase und den positiven Natrium-Ionen des Dispersionsmittels. Durch die damit Hand in Hand gehenden Änderungen der Oberflächenspannungsverhältnisse kommt es zur Adsorption einer dünnen Eiweißschichte an die Oberfläche der Lipoidphasenteilchen. Die Eiweißhülle umscheidet letztere und wirkt so als isolierende, die Entladung verhindernde Zwischenschichte. Anderseits schieben sich die elektrisch-neutralen Massenteilchen des Normalserums, die wir uns in einem sehr hohen Dispersitätsgrade verteilt denken müssen, zwischen die Phasenteilchen der Lipoidphase des Extraktes ein und verhindern mechanisch deren Kondensation zu gröberen Komplexen. Sie wirken so auf doppelte Weise mechanisch und isolierend als echtes Schutzkolloid für den Extrakt, dessen Ausflockung sie hintanhalten.

b) Verhalten von Luesserum im Kochsalzextraktkolloid.

Wenn wir aber die Vorgänge bei dem Hinzufügen von Luesserum zu Kochsalzextraktkolloid in Betracht ziehen, so wird zunächst alles weitere von der Tatsache vermehrter positiver Ladungen in der Eiweißphase der Luesseren beherrscht. Schon der Umstand der zeitlich beschleunigten und gleich anfangs intensiven Ausflockung der Lipoide im Wasserextraktkolloid gegenüber ihrem Verhalten in Gegenwirkung zum Normalserum spricht für ein Überwiegen der positiven Ladung der Eiweißphase luetischer Seren.

Für diese vermehrte positive Ladung spricht übrigens noch ein anscheinend sehr wesentlicher Versuch, den wir bei dieser Gelegenheit anführen wollen (s. Tabelle II). Fügen wir zu Normalserum, z. B. zu 0,5 ccm Normalserum, fallend bis zu 0,05 ccm Normalserum in zehn Röhrchen je 0,05 ccm Luesserum, so wird auch in dem Röhrchen (0,5 ccm Normalserum + 0,05 ccm Luesserum) nach Zusatz des Lipoidextraktes eine starke Ausflockung erfolgen. Wir sehen also aus diesem Versuche, daß die isolierende Wirkung der dispersen Eiweißphase des Normalserums durch die positive Ladung des Luesserums paralysiert wird.

In neuester Zeit zum Teil nach vollendeter Niederschrift dieser Arbeit erschien eine Reihe von Abhandlungen, welche die Auffassung, daß die elektrische Ladung von Seren die Ursache ihrer aktiven Wirkungen sei, von anderen Gesichtspunkten aus und in anderem Zusammenhange zu bestätigen scheinen. So weist Höber[1]) auf ältere seiner Forschungsergebnisse hin, aus denen hervorgeht, daß die roten Blutkörperchen negativ geladen seien. Von diesen Feststellungen Höbers ging Fahraeus[2]) in seinen Arbeiten über vermehrte Sedimentierungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen im Blute Schwangerer aus. Höber erklärt diese Erscheinung mit einer Ladungsverminderung der roten Blutkörperchen durch Entladungsvorgänge infolge Übertritts elektropositiver Substanzen ins Blutplasma im Verlaufe der Schwangerschaft. Linzenmeier[3]) hat jüngst diese Feststellungen vollinhaltlich bestätigen können. Wagner und Popper[4]) haben auch im Blute Luetischer eine vermehrte Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen nachgewiesen und somit gezeigt, daß auch im Blutplasma Syphilitischer eine positive Ladung vorhanden sein müsse. Auch wir konnten die Tatsache der vermehrten Senkungsgeschwindigkeit der roten Blutkörperchen im Luesblute (1 Teil Natriumzitratlösung 5% + 9 Teile Blut) gegenüber Normalblut bestätigen.

Den Vorgang bei Zusatz von Luesserum zu Extraktkolloid nach Meinicke hätten wir nun folgendermaßen zu erklären: Der elektronegativen Ladung des Lipoidextrakts einerseits wirkt die positive Ladung der Natriumionen und die positiven

---

1) Deutsche med. Wochenschrift 1920, Nr. 16.
2) Biochem. Zeitschr. 1918, 89.
3) Pflügers Archiv, 16. Juni 1920, S. 169.
4) Med. Klinik 1920, Nr. 36.

Ladungen in der Eiweißphase der Luesseren anderseits entgegen. Bei Wegfall einer Isolierungsschichte eines isolierenden Schutzkolloids, als welche wir die Eiweißphase des Normalserums kennen gelernt haben, kommt es nun durch Entladung zur Ausflockung der Lipoidphase.

Im Sinne einer Verstärkung und Beschleunigung dieses Ausflockungsvorganges dürfte auch die Vermehrung des Lipoidgehaltes der Luesseren gegenüber Normalseren wirken, indem die negative Ladung der Lipoidphase des Extraktkolloids durch die negative Ladung der vermehrten Eigenlipoidphase des Luesserums additiv verstärkt und dadurch die Spannungsdifferenz zwischen positiven und negativen Ladungen noch vermehrt wird. Durch diese Ladungsverhältnisse luetischer Seren erklärt sich möglicherweise auch die physikalisch-chemische Konstitution des Blutserums Luetischer gegenüber dem kolloidalen Zustande des Normalserums, die im Sinne eines herabgesetzten Dispersitätsgrads verändert erscheint. Dieser herabgesetzte Dispersitätsgrad ist wohl die Ursache für die gelegentliche Zunahme der Flockbarkeit des Serums Luetischer mit Wasser, einen Zustand, welcher gemeiniglich als „Globulinvermehrung" bezeichnet wird (Klausnersche Reaktion).

Der grob-disperse Zustand der Eiweißphase der Luesseren bildet auch kein mechanisches Hindernis für die Kondensationsvorgänge in der Lipoidphase, wenn man von der Vorstellung ausgeht, daß zwar die zarten Phasenteilchen des Normalserums, sich zwischen die Lipoidphasenteilchen einschiebend, deren Vereinigung verhindern können, daß aber die groben Eiweißkomplexe der Luesseren von den der Vereinigung zustrebenden Lipoidkomplexen beiseite geschoben werden, so daß sich letzere den Weg zur tatsächlichen Vereinigung leichter zu bahnen imstande wären.

Nach Ausflockung des Extraktlipoids durch Ladungsabgabe resultiert ein amphoterer Ladungszustand der Eiweißphase des Luesserums. Die amphoter geladenen Teilchen der Eiweißphase bleiben im kochsalzhaltigen Medium in Lösung.

Daß auch bei den Eiweißpräzipitationsreaktionen durch Eiweißimmunserum nur eine der reagierenden Komponenten ausgeflockt wird, weist Moll nach[1]), welcher zeigte, daß im Präzipitate nur das Globulin des Immunserums vorhanden ist, nichts aber von den Eiweißstoffen des zur Immunisierung verwandten Serums. Das Immunserum, das passive Reagens des Fällungssubstrates, wird durch das aktive Reagens des Fällungsmittels ausgefällt.

Die Mitausfällung ganz geringer Eiweißmengen, die unserem Nachweise etwa entgangen wären, wäre wohl durch Adsorptionsvorgänge zu erklären. Es würden auf diese Weise die Lipoidkomplexe im Momente der Ausflockung von einer zarten Eiweißhülle umscheidet, wodurch auch die angebliche Resistenz der Flockungsniederschläge gegen Aufnahme der Lipoidfärbestoffe (Sudan) erklärlich wäre. Eine isolierende Wirkung dieser Eiweißhülle könnte bei der großen Spannungsdifferenz zwischen positiver Ladung der Natriumionen und der Eiweißphasenteilchen des Luesserums einerseits, der negativen Ladung der Lipoidphasen anderseits und bei dem Wegfalle eines mechanischen Hindernisses, zufolge des grob-dispersen Zustandes der Eiweißphasen des Luesserums wohl kaum zur Geltung kommen.

Aus all dem geht hervor, daß die charakteristische Wirksamkeit luetischer Seren bedingt wird:

1. durch Vermehrung positiver Ladungen,

1) Hofmeisters Beiträge 1914, Bd. 4, S. 578.

2. durch ihren sonstigen physikalischen Zustand im Sinne einer Verminderung des Dispersitätsgrades ihrer Phasen. Es handelt sich daher nicht etwa um eine quantitative Verschiebung einzelner chemischer Bestandteile der Luesseren, sondern um eine Qualitätsänderung, die unter Einfluß des syphilitischen Prozesses zustande gekommen ist.

Wir stehen jedoch dessenungeachtet nicht auf dem Standpunkte, daß diese für Lues charakteristischen Qualitätsveränderungen im theoretischen Sinne als streng spezifisch anzusehen seien. Sie können, wenigstens insofern die Erfahrungen der Wassermannschen Reaktion in Betracht gezogen werden, auch durch andere Krankheitsprozesse vorübergehend durch Scharlach, Fleckfieber (Epstein[1])) usw., dauernd durch Lepra (Eitner[2])) bedingt werden.

* * *

Es ergibt sich demnach die bemerkenswerte Tatsache, daß Normalseren eine Schutzwirkung aufweisen, die dem Luesserum abgeht. Die Normalseren entfalten im Vergleich mit dem Luesserum gewissermaßen eine aktive Wirkung, die dem Luesserum fehlt, als ob der Krankheitsprozeß zur Aufhebung dieser aktiven Schutzwirkung geführt hätte. Anderseits hat aber das Luesserum außer diesem Verluste an Schutzwirkung eine positive Eigenschaft der Beschleunigung des Reaktionsablaufes der Ausflockung der Lipoidphase im kochsalzhaltigen Medium erworben. Es ergibt sich bis zu einem gewissen Grade eine Analogie mit den Vorgängen bei der Freund-Kaminerschen Karzinomreaktion; das Normalserum entfaltet eine aktive, zellenzerstörende Wirkung gegen Karzinomzellen; dem Serum Karzinomatöser geht diese aktive Eigenschaft ab. Der Krankheitsprozeß scheint auch hier eine aktive Eigenschaft des Normalserums zerstört zu haben. Aber auch das Karzinomserum hat eine Eigenschaft gewonnen, nämlich eine gewisse Schutzwirkung gegen die aktive, Karzinomzellen zerstörende Wirkung des Normalserums. Bemerkenswert ist auch noch die weitere Parallelität, daß bei Mischung von Normalserum mit Karzinomserum (im Verhältnis von 2:3) die Wirkung des Normalserums aufgehoben wird (Ernst Freund und Gisa Kaminer[3])).

Zur Frage der „Inaktivierung".

Wir möchten unsere Betrachtungen nicht abschließen, ohne zur Streitfrage Stellung genommen zu haben, ob „aktives" oder durch Erwärmen auf 56° C „inaktiviertes" Serum den für das Zustandekommen der charakteristischen Reaktion bei Lues geeigneten physikalischen Zustand repräsentiert.

---

1) Zentralblatt f. Bakteriologie 1919, Bd. 83, Heft 3, S. 255; Wiener klin. Wochenschrift 1918, Nr. 36.

2) Wiener klin. Wochenschrift 1906, Nr. 51; Wiener klin. Wochenschrift 1908, Nr. 20.

3) Biochem. Zeitschr. 1910, Bd. 2, Heft 3 und 4.

Nach den in Tabelle I verzeichneten Versuchen hat es den Anschein, als ob kein wesentlicher Unterschied in den Ausflockungsverhältnissen zwischen inaktiviertem und aktivem Lues- und Normalserum bestünde. Unsere Erfahrungen bei vergleichender Aufstellung einer größeren Reihe, etwa 500 Fälle, „aktiv" belassener Serumröhrchen mit parallel aufgestellten Röhrchen, die bei 56° durch eine Viertelstunde „inaktivierte" Serumproben enthielten, wie dies zu praktisch diagnostischen Zwecken vorgeschrieben ist, lehrten uns, worauf wir in einer jüngst erschienenen Arbeit (l. c.) hingewiesen haben, daß die Ausflockung in einer nicht unbeträchtlichen Anzahl sicher positiver Fälle unterblieb. Daß dies bei unseren Versuchen nicht in Erscheinung trat, mag wohl darin seine Ursache finden, daß zu den Versuchen besonders stark reagierende Seren herangezogen wurden.

Die Einwendungen gegen die Anwendung aktiver Seren, welche immer wieder von verschiedener Seite erhoben werden, sind auf Grund unserer Versuchsergebnisse hinfällig, da es sich, wenigstens bei der Ausflockungsreaktion nach Meinicke, im wesentlichen sicher nicht um eine Präzipitierung der als „Globuline" bezeichneten Eiweißkörper handelt, sondern vielmehr um eine Flockung der Lipoidphase des zugesetzten Herzextraktdispersoids. Die Forderung nach „Stabilisierung der Globuline" ist also jedesfalls vom theoretischen Standpunkte aus nicht mehr zu halten, da es sich gar nicht darum handeln kann, eine etwa bestehende uncharakteristische Ausflockbarkeit der Eiweißphase der zu untersuchenden Seren abzudämpfen. Wohl aber birgt die Inaktivierung eine andere Gefahr in sich. Die Reaktionsfähigkeit der zu untersuchenden Seren kann durch einen so schweren Eingriff in ihren kolloidalen Zustand, wie ihn die Erwärmung auf 56° C darstellt, sehr wohl geschädigt werden. Durch die Erwärmung auf 56° C werden die kolloidalen Komplexe der Eiweißphase bei Vermehrung der Gesamtoberfläche zertrümmert und dadurch der Dispersitätsgrad der Eiweißphase erhöht. Daß dies nicht ohne Schädigung der Reaktionsfähigkeit der Seren vor sich gehen kann, geht schon daraus hervor, daß gerade der grob-disperse Zustand der Eiweißphase eine der charakteristischen Eigenschaften luetischer Seren ist. zufolge welcher das mechanische Hindernis für die Kondensations- und Flockungsvorgänge wegfällt, die durch die entgegengesetzten Ladungsverhältnisse der luetischen Seren und der negativ geladenen Lipoidphase in 2 bis 3proz. Kochsalzlösung als Dispersionsmittel bedingt sind.

Optimale Temperatur für biologische Reaktionen.

Es ist bei dieser Gelegenheit zu betonen, daß die Reaktionsschärfe zwischen den reagierenden Kolloiden, dem Extraktkolloid einerseits, dem Serumkolloid der zu untersuchenden Seren anderseits, genau auf die Temperatur von 37 bis 38° eingestellt ist. Der Ablauf der Reaktion erfolgt innerhalb 24 Stunden, die Ablesung der Resultate bei der überwiegenden Mehrzahl der Fälle nach diesen 24 Stunden, bei einer geringeren Zahl jedoch nach weiterem Stehenlassen der Versuche bei Zimmertemperatur durch 24 Stunden. Jedoch ist auch bei letzteren Fällen das Er-

gebnis der Reaktion meist schon nach den ersten 24 Stunden angedeutet. (Hervorzuheben wäre, daß solche Differenzen im Ablaufmodus keinerlei Schlüsse bezüglich der Schwere des Falles usw. zulassen.)

Normalseren wirken auch bei mehrtägigem Stehenlassen der Proben bei Zimmertemperatur als Schutz gegen die Ausflockung des Extraktkolloids und erhalten dieses im Suspensionszustande.

Der der Körpertemperatur entsprechende Wärmezustand von 37 bis 38° scheint für die biologischen Reaktionen des Serums überhaupt der entsprechendste zu sein, weil mit diesen Reaktionen Serumeigenschaften nachgewiesen werden, die durch Vorgänge des gesunden und kranken Lebens bedingt sind. Daß die kolloidalen Reaktionen als Funktionen des physikalischen Zustandes der reagierenden Substanzen von Temperatur, Konzentrationsgrad usw. in höchstem Maße abhängig sind, ist ein allgemeines Gesetz der Kolloidchemie (hierzu die Kapitel über Temperatur- und Konzentrationsvariabilität des dispersen Zustandes in Ostwalds „Grundlagen der Kolloidchemie“). Geringfügige Änderungen der Temperatur bedingen oft weitgehende Änderungen im physikalischen Gefüge der zu untersuchenden Kolloide.

Präzipitationsreaktionen und Wassermannsche Reaktion.

Wir können nun nicht umhin, hier mit einigen Worten auf die theoretischen Gründe einzugehen, warum auch bei der Wassermann-Reaktion Inaktivierung der Seren die Reaktionsschärfe abstumpft, anstatt die Reaktion charakteristischer zu gestalten, indem wir auch für die Richtigkeit dieser Ansicht das Gewicht der empirischen Erfahrung ins Treffen führen.

Ohne das außerordentliche Verdienst von Hans Sachs irgendwie schmälern zu wollen, der sich als erster von der bisherigen Auffassung losgerungen hat und in klarer und überzeugender Weise, rein vom Standpunkte der Kolloidchemie aus, physikalische Einflüsse und physikalische Zustandsänderungen zur Erklärung des biologischen Verhaltens des Blutserums heranzieht, können wir nicht allen Punkten seiner Erklärung über den Mechanismus der Wassermann-Reaktion restlos zustimmen. Indem wir uns mit Sachs vollkommen einverstanden erklären, wenn er den Satz aufstellt, daß „ein weitgehender Zusammenhang zwischen Ausflockungen und den zur Komplementinaktivierung führenden Vorgängen“ vorhanden ist, mit anderen Worten, daß die Ausflockungsreaktionen und die Wassermann-Reaktion durch prizipiell identische physikalische Flockungsvorgänge bedingt sind, die bei der Wassermann-Reaktion jedesfalls weit unter der Grenze der makroskopischen Sichtbarkeit zur Komplementinaktivierung bzw. -Zerstörung führen, während sie bei den Präzipitationsreaktionen direkt zur Anschauung gelangen, müssen wir auf Grund unserer experimentellen Feststellungen zur Annahme kommen, daß auch bei der Wassermann-Reaktion nicht die „Globuline“ des Luesserums es sind, welche ausgeflockt werden, sondern daß vielmehr der elektrische und sonstige kolloidale Zustand der Luesseren die Ausflockung des zugesetzten Lipoidsdispersoids herbeiführt. Übri-

gens ist es in derselben Weise, wie es Sachs seinerzeit für die Globulinphase der Luesseren ausgesprochen hat, gar nicht nötig, annehmen zu müssen, daß die Änderung des Dispersitätsgrades so weit führt, daß es zu effektiven Ausflockungen kommt; es könnte schon eine entsprechende Verminderung des Dispersitätsgrades der Lipoidphase einen Kondensationsvorgang herbeiführen, der eine Komplementinaktivierung zur Folge hat (Hans Sachs[1])).

Die Petitio prima kann also auch bei der Wassermann-Reaktion nicht auf die Stabilisierung der Globuline durch Inaktivierung hinauslaufen, sondern auf Herstellung eines komplexen Lipoiddispersoids, welches durch seine Zusammensetzung auf den elektrischen Ladungs- und sonstigen kolloidalen Zustand der Luesseren charakteristisch eingestellt ist. Die Lehre von der Thermostabilität der Reaktionsfähigkeit luetischer Sera als Charakteristikum für diese ist auf Grund der Erfahrungen Landsteiners und Müllers, Müllers und anderer Autoren nicht zu halten. Epstein fand in einer nach Tausenden von Fällen zählenden Reihe parallel durchgeführter Untersuchungen, daß die Reaktionsfähigkeit luetischer Seren durch Inaktivierung in 6 bis 10% der Fälle zerstört wird und daß anderseits bei Anstellung der Wassermann-Reaktion mit aktiven Seren bei Anwendung scharf eingestellter Extrakte so gut wie niemals uncharakteristische Ausfälle resultieren. Die Beseitigung des Eigenkomplementes der zu untersuchenden Seren durch Inaktivierung, die eine in der ursprünglichen Hypothese begründete Berechtigung zu haben schien, spielt demnach für die Richtigkeit des Reaktionsausfalles keinerlei Rolle (siehe hierzu auch Sachs und Altmann[2])). Wenn dessenungeachtet mit der Kaupschen Modifikation der Wassermann-Reaktion, welche mit inaktivierten Seren arbeitet, nach verläßlichen Berichten[3]) einwandfreie Resultate erzielbar sind, so spricht das keinesfalls für die Richtigkeit der Thermostabilitätslehre. Kaup[4]) stellt seine Modifikation auf die minimale Komplementdosis ein und muß daher das Eigenkomplement der zu untersuchenden Seren ausschalten. Die Erhöhung der Reaktionsempfindlichkeit durch Verwendung minimaler Komplementmengen gleicht vielmehr die Schädigung des physikalischen Zustandes der reagierenden Seren im allgemeinen wieder aus. Für die Herstellung optimal wirkender Extrakte hat uns Hans Sachs den richtigen Weg gewiesen, indem er uns den Vorzug der Anwendung alkoholischer Herzextrakte in kolloidaler Lösung durch Verdünnung alkoholischer Lösungen mit physiologischer Kochsalzlösung lehrte. Die Herstellung der „N-Extrakte“ nach Rudolf Müller, die sich in der Praxis vorzüglich bewähren, ist prinzipiell identisch mit dem Herstellungsverfahren der Extraktemulsionen nach Hans Sachs. Wenn Hans Sachs den Eigen-

1) Zeitschr. f. Immun.-Forsch. 1917, Bd. 26, S. 460 ff.

2) Kolle und Wassermann, Handbuch der pathologischen Mikroorganismen. 1909. I. Auflage. S. 593.

3) Blanck, Münchn. med. Wochenschrift 1917, Nr. 4.

4) Münchn. med. Wochenschrift 1917, Nr. 5. Monographie im Verlag von Oldenbourg, München und Berlin 1917.

lipoiden des Serums eine wesentliche Rolle beim Zustandekommen der Wassermann-Reaktion zuschreibt, indem er ein Zusammenwirken von Serumlipoiden und Extraktlipoiden im Sinne einer Antigen-Antikörperreaktion annimmt, so können wir diesen Standpunkt nicht teilen, indem unserer Ansicht nach in erster Linie die Eiweißphase der Luesseren und die Lipoidphase des Extraktkolloids als reagierende, gewissermaßen aufeinander gestellte Substanzen in Betracht kommen. Die elektronegative Ladung der Eigenlipoide des Serums dürfte aber wohl die Ladungswirkung der negativen Phase der Organextraktlipoide verstärken.

Zusammenfassung.

In Kürze zusammenfassend, glauben wir klargestellt zu haben, daß bei der Präzipitationsreaktion der Seren bei Syphilis nicht die als Globuline bezeichnete Eiweißphase der luetischen Seren ausgeflockt wird, sondern die Lipoidphase des zugesetzten Organextraktes. Bei Auswahl entsprechend komplexer Lipoiddispersoide von Extrakten, welche derzeit wohl ausschließlich durch Extraktion tierischer oder menschlicher Organe gewonnen werden können — auch die cholesterinierten Extrakte nach Sachs und Georgi sind im wesentlichen Rinderherzextrakte-, weisen diese in Verwendung gezogenen Extraktkolloide einen Dispersitäts- und elektrischen Ladungszustand auf, welcher auf dem für Lues charakteristischen Dispersitäts- und elektrischen Ladungszustand der Eiweißlipoidphase luetischer Seren bei 37° C prompt eingestellt ist. Der Dispersitätsgrad der in Anwendung gezogenen Lipoiddispersoide steht an der Grenze zwischen grobdisperser und echt kolloidaler Dispersität des komplexen Suspensions-Emulsionskolloids. Die Extraktaufschwemmung 1 Teil OE + 7 Teile Kochsalzlösung („Kochsalzextraktkolloid") flockt daher in relativ kurzer Zeit — 4 bis 18 Stunden — bei 37° C spontan aus. Bei der Präzipitationsreaktion luetischer Seren nach Meinicke tritt eine Entladung der elektronegativen Lipoidphase durch die Natrium-Ionen des Kochsalzes und die positive Ladung der Eiweißphase der luetischen Seren ein. Diese Entladung führt in letzter Konsequenz zur Ausflockung der Lipoidphase des Extraktkolloids.

Die Inaktivierung der Seren hätte unserer Ansicht nach zu unterbleiben, da einerseits die „Stabilisierung der Globuline" insofern nicht in Betracht kommen kann, als die Globuline ja gar nicht ausgeflockt werden, somit auch eine uncharakteristische Flockung labiler Eiweißkörper der Luesseren nicht zu verhindern ist, anderseits aber das Erwärmen auf 56° einen förmlich brutalen Eingriff in den physikalischen Zustand kolloidaler Lösungen, also auch syphilitischer Seren darstellt. Die Inaktivierung hebt demnach auch erfahrungsgemäß in einem relativ hohen Prozentsatz der untersuchten Fälle die Reaktion auf und macht sie jedenfalls nicht „spezifischer", oder, um es präziser auszudrücken, nicht „charakteristischer", sondern stumpft nur die Reaktionsschärfe ab.

Das Neue und bisher Ungekannte, das die Präzipitationsreaktion nach Meinicke bietet, ist die Tatsache, daß die Normalseren die spontane Lipoidausflockung behindern, also eine besonders aktive Arbeit leisten, indem sie eine Schutzwirkung entfalten, deren Effekt sich darin äußert, daß das zugesetzte Extraktlipoid in seinem kolloidalen Gleichgewichtszustand erhalten wird und seinen Dispersitätsgrad beibehält, während Luesseren den spontanen Flockungsprozeß des Extraktkolloids nicht nur nicht behindern, sondern beschleunigen und verstärken. Die Eiweißphase der Normalseren wirkt als elektrisch indifferente isolierende Schicht, indem sie einerseits durch Adsorption die Phasenteilchen des Lipoidextraktes einhüllend, die Entladung hintanhält, anderseits aber auch als mechanisches Hindernis wirkt, indem sich ihre Phasenteilchen zwischen die der Lipoidphase des Extraktkolloids einschieben und deren Kondensation zu gröberen Komplexen hindern. Dem Luesserum fehlt diese Schutzwirkung infolge seiner eigentümlichen elektrischen Ladungsverhältnisse und seines sonstigen physikalisch-chemischen Zustandes. Es handelt sich demnach um eine Qualitätsveränderung, welche unter dem Einflusse des syphilitischen Prozesses zustande gekommen ist.

Zwischen Wassermannscher Probe und Präzipitationsreaktionen besteht eine große Verwandtschaft, indem sie beide auf Kondensationsvorgängen der dispersen Teilchen der Lipoidphase der zugesetzten Extraktkolloide beruhen dürften, die bei der Wassermann-Reaktion, ohne gerade direkt Ausflockungsvorgänge veranlassen zu müssen, jedenfalls hinreichen, die Komplementinaktivierung herbeizuführen, bei der Präzipitationsreaktion aber zu direkt in Erscheinung tretender Ausflockung der Lipoidphase und vollkommener Aufhebung ihrer kolloidalen Dispersität den Anstoß geben. Daß die Resultate nicht streng parallel ausfallen, beruht wohl in der Verschiedenheit der Zusammensetzung der Lipoidphasen bei den in Verwendung gezogenen Extrakten, in den Unterschieden ihres Dispersitätsgrades, sowie auch in dem Umstande, daß bei der Meinickeschen Präzipitationsreaktion eine 2 bis 3proz. Kochsalzlösung, bei der Wassermannschen Reaktion eine auf die physikalische Resistenz der Hammelblutkörperchen eingestellte, 0,8 bis 0,9proz. Kochsalzlösung als Dispersionsmittel in Anwendung kommt. Es scheint ganz gut möglich, daß allein diese verschiedene Natrium-Ionen-Konzentration differente elektrochemische Reaktionsbedingungen schafft, welche zur Folge haben, daß in der Praxis die Kombination der beiden Methoden qualitativ und quantitativ jenes Optimum der Ablesungseffekte erzielt, welches mit jeder der beiden Methoden allein nicht zu erreichen ist.

Epikrise.

Im vorliegenden wurde versucht, das Phänomen der Ausflockung lipoidhaltiger Organextrakte und die besondere Eigentümlichkeit

dieser Erscheinung bei Zusatz normaler und luetischer Seren rein vom Standpunkte der physikalisch-chemischen (kolloidchemischen) Betrachtungsweise zu erklären. Wenn man die Arbeiten der letzten Jahre über Immunitätsreaktion im allgemeinen, sowie speziell über die serologischen Reaktionen bei Syphilis, ferner z. B. die zahlreichen Erklärungsversuche der Weil-Felixschen Fleckfieberagglutination in Betracht zieht, so fällt auf, daß ein Teil der Autoren ausschließlich im Fahrwasser der Ehrlichschen Antigen-Antikörper-Hypothese segelt, während die übrigen Autoren ein Kompromiß dieser Hypothese mit der kolloidchemischen Auffassung herbeizuführen bestrebt sind. Die Ehrlichsche Hypothese (Seitenkettentheorie) wurzelt in rein chemischen Anschauungen und sucht die Immunitätslehre auf den Prinzipien der chemischen Affinitätslehre und der stöchiometrischen Betrachtungsweise aufzubauen. Sie zieht also den chemischen Bau, die molekulare Struktur der aufeinander wirkenden Stoffe (Antigen-Antikörper) als das wesentlichste Erklärungsmoment heran. Die Größe der Ehrlichschen Leistung kann nicht nur an den enormen Erfolgen gemessen werden, welche Ehrlichs Hypothese gezeitigt haben, sondern erregt auch durch die Kühnheit der Konzeption dieser Hypothese und ihres Ausbaues bis in die detailliertesten Einzelheiten ungeteilte Bewunderung. Die Kolloidforschungen der letzten Jahrzehnte, von Grahams grundlegender Feststellung im Jahre 1862 ausgehend, der im einfachen Dialysierversuche mittels Pergamentmembran die Lösungen in eine Gruppe dialysabler und in eine Gruppe nichtdialysabler zu scheiden lehrte (welch letztere er nach deren bekanntestem Vertreter, dem Leime, Kolloide nannte), haben jedoch der wissenschaftlichen Erkenntnis ganz neue Bahnen eröffnet. Der prinzipielle Unterschied zwischen der rein chemischen und der physikalisch-chemischen Auffassung besteht darin, daß bei der Beurteilung kolloid-chemischer Reaktionen vorwiegend physikalische Momente, die sich auf den kolloidalen Zustand der reagierenden Substanzen beziehen, zur Erklärung herangezogen wurden. Dieser kolloidale Zustand hat keinen direkten Bezug zur chemischen Natur der betreffenden Stoffe, sondern ist eine reine Funktion physikalischer Energien (elektrischer und sonstiger Oberflächenenergien). Es scheint übrigens die naturwissenschaftliche Erkenntnis immer mehr durchzudringen, daß die chemischen Veränderungen insgesamt auf physikalische Vorgänge zurückzuführen seien.

Bemerkungen über das Pirquetsche Ernährungssystem.

Von

Privatdozent Dr. **Ernst Krombholz**, Wien.

(Bei der Schriftleitung eingegangen am 22. Januar 1921.)

Das Pirquetsche Ernährungssystem gewinnt zunehmend an Geltung und hat vorzüglich in Österreich unter der Mitwirkung besonderer Verhältnisse eine große Bedeutung erlangt. Dem österreichischen Volke sind die Grundlagen seines wirtschaftlichen Daseins entzogen worden, und nur die Hilfe des Auslandes, vor allem auch die Amerikas, die als eine Wohltätigkeitstat von ungewöhnlicher Großartigkeit erscheint, hält den völligen Zusammenbruch der Ernährung auf, von dem wir ständig bedroht sind.

Die überaus schwierige Aufgabe nun, diese in Realien gebotene Hilfe auf die Bedürftigen in zweckmäßiger Weise zu verteilen, ist durch eine Organisation in Angriff genommen worden, die auf Grundlage des Pirquetschen Systems mit seltener Begabung aufgebaut wurde. Es ist dabei die Zwangslage, in die uns das Angewiesensein auf Hilfe von außen versetzt, in erlaubter Weise zur Bindung an eine Ordnung und an die strenge Einhaltung bestimmter Aufsichtsmaßnahmen benützt worden. Darin liegt eine Leistung, die anerkannt werden muß, auch wenn hier, wie für alles derartige Ordnungswesen, ihr Preis gezahlt werden muß. Denn in jeder Ordnung, in die man organische Wesen zwingt, liegt die Tragik innerer Widersprüche, mit denen sie zu ringen hat, solange sie sich behaupten will. Für diesen Kampf ist es oft entscheidend, ob Kritik gehört wird. Nun hat es bisher an Widerspruch gegen das Pirquetsche System, und zwar gelegentlich recht heftigen, nicht gefehlt. Wenn trotzdem das Erscheinen eines Lehrbuches[1]), in dem das System neuerdings, und zwar in seiner Anwendung auf die Durchführung der Volksernährung dargestellt erscheint, hier zu einigen kritischen Bemerkungen benützt wird, ohne daß weiter bedacht wird, ob sie neu seien oder nicht, so läßt sich das wohl

1) Lehrbuch der Volksernährung nach dem Pirquetschen System, herausgegeben von Privatdozent Dr. L. Mayerhofer und Professor Dr. C. Pirquet, Urban und Schwarzenberg 1920.

dadurch rechtfertigen, daß dabei nach einheitlichen Anschauungen gestrebt wird, die vielleicht einer besseren Aufklärung über das System dienen können, wenn sie auch nicht erschöpfend sind.

Zunächst ersieht man aus dem Buche, daß der Urheber jenes Systems die hohen Ansprüche, mit denen es zuerst vor die Öffentlichkeit getreten ist — wären sie begründet gewesen, so hätte man von da ab eine neue Zeitrechnung der Ernährungslehre zu beginnen gehabt —, offenbar aufgegeben hat. Denn Bedeutung und Wesen des Systems lassen sich kaum treffender charakterisieren, als es von Pirquet selbst in der knapp gehaltenen Vorrede dieses Lehrbuches durch den schlichten Satz geschieht: „Im Nemsystem habe ich den Nährwert auf einfache, für Küche und Buchführung verwendbare Formeln gebracht.“ Also nicht um das „fundamentale Gebäude einer neuen Wissenschaft“, nicht um „neu geschaffene Grundlagen der Ernährungslehre“, wie Nobel und Mayerhofer in ihren Beiträgen zu dem genannten Buche schreiben, handelt es sich, sondern im wesentlichen um eine Neufassung der überlieferten energetischen Ernährungslehre, wie wir sie hauptsächlich Rubner verdanken. Ihre Grundlagen sind durchaus auch das tragende Gebälke des Nemsystems. Sie sind gewissermaßen durch eine architektonische Verkleidung hier nur verdeckt. Dabei kommen wesentlich drei Motive in Betracht, bezeichnet durch die Wortmarken Nem, Siqua und Gelidusi, welche als die Maske des Nährwertes, des Nahrungsbedarfes und des Ernährungszustandes das Pirquetsche System im Grunde erschöpfen. Sie sollen in Kürze hier nacheinander erörtert werden.

Daß die Nemeinheit, nicht anders wie die Kalorie, eine Wärmemenge bedeutet, ihrem Wesen nach also mit ihr einerlei ist, liegt so auf der Hand und ist schon so oft gesagt worden, daß es begreiflich ist, wenn die Vertreter der Nemlehre ungeduldig werden, sobald man wieder darauf zurückkommt. Es ist dies aber dennoch nicht zu vermeiden, solange sie selbst in ihren Veröffentlichungen daran festhalten, die Nemeinheit als ein physiologisches Maß der Kalorie als einem physikalischen, also im Grunde dem Maßgegenstand nicht angemessenen gegenüberstellen.

So lesen wir in Nobels Beitrag zu dem genannten Buche, wie Pirquet es unternommen habe, den Wirrwarr, der im Nährwertbegriff verborgen war, durch eine neue physiologische Maßeinheit zu klären. Mayerhofer aber schreibt in seinem Abschnitt über Ernährungskunde über das Verhältnis der Kalorien zur Nemrechnung wörtlich wie folgt: „Der Vorteil der Kalorienrechnung ist nämlich in ihrer allgemeinen Anwendbarkeit für physikalische Zwecke gelegen. So kann man auf Grund der bei der Verbrennung gewonnenen Kalorien in gleicher Weise Diamanten, Kohle, Reisig, Holz sowie auch Milch und andere Nahrungsmittel miteinander physikalisch vergleichen. Der Nachteil der Kalorienrechnung ist aber darin gelegen, daß man für besondere Zwecke diese genauen physikalischen Werte nicht verwenden kann, wie in unserem gewählten Beispiel beim Diamanten und bei der Milch. In manchen Ausnahmefällen wird man mit der Kalorienrechnung den Wert eines Stoffes als Nahrungsmittel und als Brennstoff gleichzeitig ausdrücken können, wie z. B. in den holzarmen Gegenden Asiens in denen man getrocknete Fische gleichzeitig als Nahrungs-

mittel und als Brennstoff für Lokomotiven verwendet. Solche Fälle sind aber gewiß Ausnahmsfälle." Es ist schwer zu sagen, was mit diesen Sätzen eigentlich gemeint sei. Daß der Kalorienwert eines Nahrungsmittels und sein energetischer Nährwert nicht ohne weiteres identifiziert werden dürfen, ist gewiß richtig. Auch die von Schülern Tangls auf Grund des Nernstschen Theorems angestellte Berechnung, daß bei der Verbrennung von Kohlehydrat, Eiweiß und Fett unter den im Warmblütler eingehaltenen Bedingungen die verfügbare freie Energie nahezu gleich der Wärmetönung als Maß der Affinität ist, gibt noch nicht das Recht dazu, wie Höber im 15. Kapitel seiner physikalischen Chemie der Zelle und Gewebe zeigt. Wenn aber allenfalls diese Bedenken mit obiger Darstellung gemeint sein sollten, so muß man einerseits sagen, daß genau ebenso wie die Kalorienmessung auch das Nemmaß dadurch getroffen werde, anderseits aber, daß diesen Bedenken, wie Höber gleichfalls zeigt, praktische Bedeutung doch wohl nicht zukommt. Jedenfalls ist das Nemmaß mit dem Kalorienmaß auf das innigste verknüpft. Wie groß die Abhängigkeit ist, offenbart sich in der Entstehung der Nemtabellen, die Pirquet in der ersten Darstellung des Systems (Ztschrft. f. Kdhlkd., 14. Band) in folgender Weise schildert: „König hat alle chemischen Analysen, die von jedem einzelnen Nahrungsmittel von verläßlichen Autoren gemacht worden sind, gesammelt und daraus Durchschnittszahlen gezogen, die er als Rohnährstoffe benennt. Dann hat er unter Berücksichtigung der verhältnismäßig wenigen Versuche, die in der Literatur über Ausnützung der Nährstoffe vorliegen, daraus den ausnutzbaren Teil der chemischen Prozentsätze berechnet. Aus diesen ausnutzbaren Nährstoffen hat er durch Multiplikation mit den Rubnerschen Zahlen[1]) die „reinen Kalorien" erhalten. Diese reinen Kalorien multipliziere ich wieder mit 1,5, um den vorläufigen Nemwert des betreffenden Nahrungsmittels anzusetzen." Daß auf diese Weise aus einem physikalischen kein physiologisches Maß wird, müßte eigentlich nicht noch besonders gesagt werden. Wenn manche der gebräuchlichen Nährwerttafeln unserer Literatur in ihren Daten die Ausnützbarkeit der Nahrungsmittel nicht berücksichtigen, sondern eben „Rohnährstoffe" angeben, so geschieht dies natürlich nicht in der Meinung, daß die verschiedene Ausnützbarkeit der Nahrungsmittel zu vernachlässigen wäre, sondern aus der berechtigten Überlegung, daß die Ausnützbarkeit eines Gemisches von Nahrungsmitteln sich eben nicht additiv aus der Ausnützbarkeit ergibt, die ihre Bestandteile im Versuche zeigen, wenn sie für sich allein gereicht werden, sondern daß die Bestandteile der Kost einander in ihrer Ausnützbarkeit beeinflussen, fördern und hemmen. Es wird daher den Benützern solcher Tabellen überlassen, für unvollkommene Ausnützung je nach der Kost, um die es sich handelt, den Abzug zu machen, der erfahrungsgemäß ihrer Zusammensetzung entspricht. Die Unterlagen dafür sind freilich spärlich. Immerhin ist eine Wertung der Ausnützbarkeit von Kostsätzen unter Berücksichtigung dieses Momentes wenigstens in Stufen doch jetzt schon möglich.

Über die Bedenken, welche zu dieser Art der Darstellung geführt haben, sind König und andere Autoren, die ihm hierin folgen, so auch

1) Für Eiweiß verwendet König nicht die Rubnersche Zahl.

Pirquet hinweggegangen um der Vereinfachung willen, die sie damit erzielen. Ob dies zweckmäßig ist oder nicht, darüber liegt die Entscheidung bei der Wertung der Fehler, die dabei in Kauf genommen werden, bei der Abwägung der Vor- und Nachteile, die damit verbunden sind. Diese Wertung und Abwägung steht hier freilich noch aus.

Die Nemrechnung leistet also für die Einschätzung der Nahrung tatsächlich nichts, was nicht die Kalorienrechnung ebenso leisten könnte und, wo sie sinngemäß angewendet wurde, auch längst schon geleistet hat.

Nun wird aber diese Art der Ermittlung des Nemwertes von Pirquet als eine vorläufige bezeichnet und als der wahre Weg zur Ermittlung der Nemwerte ein „Ersatzverfahren" angegeben. Danach solle empirisch festgestellt werden, inwieferne ein zu prüfendes Nahrungsmittel den Nährwert der Milch voll ersetzen könne.

Gröer gibt in einem Aufsatz im 97. Band der Biochemischen Zeitschrift an, daß es sich dabei nicht um den kalorischen Wert der Milch handle, sondern daß der Nährwert alles umfasse, was ihr als vollwertiges Nahrungsmittel eigen ist. In diesem Sinne sieht auch Gröer im Nemwert eine mit dem Rang „physiologisches Maß" auszuzeichnende Nährwerteinheit. Nur die Schwierigkeit und Langwierigkeit der Ersatzversuche rechtfertige es, inzwischen „nach dem aktuellen Nemwert zu greifen".

Die Absicht einer solchen empirischen Wertung unserer Nahrung durch ein Ersatzverfahren hat Pirquet von der landwirtschaftlichen Fütterungslehre her übernommen. Hier ist der Stärkewert eine empirische Einheit des Nährwertes, die Kellner für die quantitative Ernährung der Nutztiere eingeführt hat. Aber dieses Maß ist nach der Art seiner Ermittlung kaum als ein physiologisches, eher als ein „biotechnologisches" zu bezeichnen. Denn die Äquivalenz der Nahrungsmittel mit der Stärkenahrung bezieht sich auf bestimmte, vom Landwirt angestrebte Erfolge, wie Fettansatz, Milchproduktion oder Muskelarbeit, also auf Teilverrichtungen des Organismus, die in einfacher Weise meßbar sind. Von einer spezifisch physiologischen Wertung der Nahrung könnte man doch eigentlich nur sprechen, wenn die Leistung der Nahrung auf die physiologischen Gesamtvorrichtungen des Organismus bezogen würde, für die uns aber doch wenigstens in ihrer Ganzheit eigentlich jedes Maß fehlt, und wenn wir zum Vergleich tatsächlich über ein vollkommenes Nahrungsmittel verfügen würden, das auf die Dauer diese Gesamtvorrichtungen voll bestreiten könnte. Aber als ein solches Nahrungsmittel kann die Milch kaum in der ersten Säuglingsperiode gelten nach dem, was wir aus den bekannten Versuchen Bunges über die Wichtigkeit des Eisenvorrates wissen, den der mütterliche Organismus dem Embryo mitgibt; später gewiß nicht mehr und beim Erwachsenen ist ausschließliche Ernährung mit Milch schon um der zu geringen Konzentration des Nahrungsmittels willen auf die Dauer nicht möglich.

Ein Ersatzverfahren wäre also bei Erwachsenen nur so durchführbar, wie es auch Pirquet angibt, daß im Rahmen einer Grundnahrung zuerst Milch eingeführt wird und dann festgestellt würde, indem man sie durch das zu prüfende Nahrungsmittel ersetzt, ob beide Nahrungsmittel für die Ernährung des Organismus das gleiche leisten. Diese Prüfung auf Äqui-

valenz müßte sich über die gesamten physiologischen Leistungen der Nahrungsmittel, ihre energetischen, wie spezifisch stofflichen, Punkt für Punkt erstrecken.

Über solche Ersatzversuche bezüglich der energetischen Funktion kann man aber hinsichtlich des zu erwartenden Ergebnisses wohl einiges voraussagen. Denn auf Versuchen, die in der Grundlage wenigstens gleich sind, beruht ja die Aufstellung des Isodynamiegesetzes von Rubner. Die Beziehung auf Milch würde daran nichts ändern. Ebenso ist, was die Ausnützbarkeit anbelangt, zu erwarten, daß nur bestätigt würde, wie die Nahrungsmittel darin sich gegenseitig beeinflussen. Auch bezüglich der stofflichen Leistungen der Nahrung hat Rubner bereits Versuche durchgeführt, die als Ersatzversuche zu bezeichnen sind; jene Versuche, welche die verschiedene biologische Wertigkeit der Eiweißkörper ergeben haben. Bei den akzessorischen Nährstoffen aber erscheint ein quantitativer Vergleich der Nahrungsmittel nach ihrem Inhalt an solchen wenigstens vorläufig aussichtslos. Es ist ja die qualitative Hinlänglichkeit an sich schon so schwierig festzustellen. Auf jeden Fall ist das Studium der akzessorischen Nährstoffe an eine Methodik gebunden, die ganz und gar durch deren Eigenart bestimmt ist. Es ist nicht einzusehen, was gerade Ersatzversuche mit Milch hier leisten sollten.

Aus all dem ergibt sich, daß der Nembegriff für die Theorie der Ernährung weder den Wert einer neuen Erkenntnis, noch den eines heuristischen Prinzipes hat. Seine Bedeutung liegt in einer ganz anderen Leistung. Für die Praxis der Ernährungsfürsorge bedeutet er den Vorteil einer wesentlich erleichterten Verständigung mit dem Kreis jener, denen die einschlägigen wissenschaftlichen Begriffe in ihrer Verwickeltheit und feinen Schärfe nicht zugänglich sind.

Er setzt an ihre Stelle ein leichtfaßliches Sinnbild. Wenn es sich aber beim Nembegriff nur um ein Sinnbild der Nahrhaftigkeit handelt, dann muß zugegeben werden, daß die Milch in mehr als einer Beziehung sich vorzüglich als solches eignet. Sie ist bei der außerordentlichen Wertschätzung, die sie als Nahrungsmittel allgemein genießt, ein überzeugendes Symbol des quantitativ faßbaren Nährwertes; sie deutet aber auch als gangbares Muster eines vollkommenen Nahrungsmittels auf die Forderung der qualitativen Hinlänglichkeit der Nahrung. Ferner wird, da ihre Dichte nur wenig von 1 abweicht, ihre Masse unmittelbar durch ihr Raummaß dargestellt. Schließlich erleichtert es in der Milchküche die Nährwertberechnung natürlich wesentlich, wenn die Milch selbst ihr Maß ist. Dem gegenüber stehen freilich auch wieder Nachteile, die nicht übersehen werden dürfen. In anderem Zusammenhange wird darauf noch zurückzukommen sein. Hier sei als das größte Übel nur die doppelte Rechnung angeführt, die sich aus der Anwendung zweier Maße ergibt, eines, das die Theorie nicht aufgeben kann, und eines anderen für die Praxis bestimmten. Das ist eine arge Verwicklung, welche die allgemeine Verständigung in Ernährungsangelegenheiten doch wieder recht erschwert. Es ist nicht möglich, auf naheliegende Verbesserungsvorschläge hier einzugehen.

Das zweite Maß, das Pirquet in seinem System aufgestellt hat, ist das Siquamaß, das zur Ermittlung des Nahrungsbedarfs dient. Auch

dabei handelt es sich im wesentlichen um eine förmliche, nicht um eine inhaltliche Neuerung in der Ernährungslehre. Denn was ihm zugrunde liegt, ist schließlich eine Variante des „Oberflächengesetzes".

Aus Pfaundlers vortrefflichen Körpermaßstudien an Kindern ist klar zu ersehen, daß wir am sog. Oberflächengesetz in seinen verschiedenen Fassungen den eigentlichen Inhalt von seiner gedanklichen Deutung zu trennen haben. Sein wesentlicher Inhalt ist die Regel, daß der Nahrungsbedarf verschieden großer, ähnlich gebauter Tiere ceteris paribus als eine Flächenfunktion im mathematischen Sinne erscheint: er kann aus dem Gewicht der Tiere als $\frac{2}{3}$ Potenz in einer oft sehr guten Übereinstimmung mit der Beobachtung abgeleitet werden.

Die vorliegenden gedanklichen Deutungen der fraglichen Funktion sind aber, wie Pfaundler zeigt, logisch doch recht anfechtbar. Die Heranziehung des stereometrischen Lehrsatzes, daß bei geometrisch ähnlichen Körpern die Oberflächen proportional sind der $\frac{2}{3}$ Potenz ihres Volumens, ist auf den ersten Blick ungemein verlockend. Doch ist die Beziehung nur auf die äußere Oberfläche oder nur auf die innere Flächenentfaltung eines bestimmten Organsystems immer eine willkürlich begrenzte und führt zu Widersprüchen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann; die Beziehung auf sämtliche Flächenausmaße des Körpers aber, seien es Grenz- oder Querschnittsflächen, setzt nicht nur die anatomische, sondern auch die physiologische Ähnlichkeit des Organismus in allen Abstufungen seiner Bauelemente voraus, eine Voraussetzung, die selbst bei Angehörigen der gleichen Art nicht zutrifft. Es sei hier nur an die interessanten Ergebnisse der Größenbestimmung histologischer Elemente durch Schiefferdecker hingewiesen, der beim Menschen in der Größe der Zellen und Zellkerne durchgreifende Unterschiede findet, und zwar sowohl zwischen den Rassen als innerhalb der einzelnen Rasse. Bestehen aber solche Unterschiede, dann ist die Ableitung des $\frac{2}{3}$ Potenzgesetzes aus der Funktion realer Flächen nur dann aufrecht zu erhalten, wenn man annimmt, daß ein anderweitig erfolgender korrelativer Ausgleich hinzutritt. So läßt uns die Deutung, die anfangs so einleuchtend ist, schließlich doch wieder vor einem Rätsel stehen.

Bei dieser Schwäche der vorliegenden Erklärungen des $\frac{2}{3}$ Potenzgesetzes kommt eigentlich alles auf den experimentellen Nachweis seiner Gültigkeit an. Aber auch da sind für das Gesetz nur solche Versuche beweisend, die in allen den Punkten gleiche Verhältnisse schaffen, von denen der Energieumsatz abhängt, also kaum anders als durch Ruhenüchternversuche bei normalem Ernährungszustand, die einen Vergleich des Grund- oder Erhaltungsumsatzes gestatten. Im Tierversuch ist vor allem der Forderung nach vollkommener Körperruhe kaum zu entsprechen. Hier aber interessieren uns zunächst nur die Verhältnisse beim Menschen, und da kann immerhin als feststehend angenommen werden, daß bei Vergleichung von Individuen verschiedenen Gewichtes die erheblichen Unterschiede, die bestehen, wenn man den Erhaltungsumsatz auf die Gewichtseinheit berechnet, zum größten Teil ausgeglichen werden, wenn man sie zur $\frac{2}{3}$ Potenz des Gewichtes in Beziehung setzt. Freilich sind auch dann noch Einflüsse der Konstitution und des Alters unverkennbar. Immerhin aber

haben wir damit einen Anhaltspunkt für die Berechnung des Nahrungsbedarfes gewonnen, und zwar jenes Nahrungsbedarfes, der für die Erhaltung oder Erreichung eines physiologischen Ernährungszustandes notwendig ist. Rubner hat, ausgehend von seiner wärmewirtschaftlichen Fassung des Oberflächengesetzes, zuerst die aus dem Istgewicht zu berechnende, äußere Oberfläche des Körpers zur Grundlage der Berechnung des Nahrungsbedarfes gemacht, ein Verfahren, das aber nur bei gegebenem, normalem Ernährungszustand anwendbar ist.

Demgegenüber hat Pirquet die Bemessung des Nahrungsbedarfes auf die Größe der resorbierenden Darmfläche bezogen, die aus der Sitzhöhe zu berechnen sei. Dies geschah in der ersten Darstellung der Methode zunächst vorbehaltlos. In weiteren Ausführungen aber bekennt Pirquet unter Hinweis auf die Pfaundlerschen Körpermaßstudien, die eine historische Darstellung des Oberflächengesetzes enthalten, daß er zu ähnlichen Anschauungen bezüglich der Abhängigkeit des Nahrungsbedarfes von der $\frac{2}{3}$ Potenz des Körpergewichtes gekommen sei wie Hermann v. Hößlin, der sie als allgemeine Flächenfunktion auffaßt. Die Darmfläche sei ihm nur ein Flächenbegriff, der leichter zu fassen ist, und eine Größe, die leichter zu berechnen ist, als die $\frac{2}{3}$ Potenz des Körpergewichtes. Entscheidend aber ist, daß damit die Bemessung des Nahrungsbedarfes auf das Sollgewicht und nicht auf das Istgewicht bezogen wird.

„Bei gleicher Entwicklung von Muskulatur und Fettpolster ist das Verhältnis zwischen dem Kubus der Sitzhöhe und dem Körpergewicht in allen Lebensaltern konstant.“ „Beim muskelkräftigen Erwachsenen und beim fetten Säugling ist der Kubus der Sitzhöhe gleich dem zehnfachen Körpergewicht.“

Das sind zwei Schlußsätze aus einer Publikation Pirquets über Sitzhöhe und Körpergewicht (Ztschrft. f. Kdhlkd., 14. Band, 3. Heft). Die beiden Sätze sind inhaltlich nicht ganz übereinstimmend. Darauf wird später noch zurückzukommen sein; hier können wir uns vorläufig daran halten, daß nach dem zweiten Satz das Normalgewicht von Erwachsenen und Säuglingen sich aus der Sitzhöhe berechnen läßt, und zwar, wenn Π dieses Normal- oder Sollgewicht ist und S die Sitzhöhe, nach der Formel $\Pi = \frac{S^3}{10}$.

Daraus ergibt sich durch eine einfache Umformung, daß das Quadrat der Sitzhöhe, das „Siqua“, die $\frac{2}{3}$ Potenz des zehnfachen Sollgewichtes darstellt. Nun muß zwar, gleichbleibende Statur und Dichte des Körpers vorausgesetzt, nach dem bekannten stereometrischen Gesetz die $\frac{2}{3}$ Potenz seines Gewichtes der 2. Potenz aller seiner homologen, linearen Dimensionen, demnach auch Siqua proportional sein. Aber eben nur unter den genannten Voraussetzungen. Denn die Anwendbarkeit jenes Gesetzes ist an die bestehende geometrische Ähnlichkeit gebunden.

Es steht aber beim normalen Wachstum, wie allgemein bekannt ist, das Auseinandergehen von Längen- und Gewichtszunahme fest, also die Störung der geometrischen Ähnlichkeit, und obiger Satz kann hier nicht herangezogen werden. Pirquet fragt selbst, woher es komme, daß trotz-

dem die Sitzhöhe vom Foetus bis zum Erwachsenen ihre gleiche Beziehung zum Körpergewicht erhalte, wie die Erfahrung lehre, und erklärt es daraus, daß die beiden Momente, die hauptsächlich die Statur des Kindes von der des Erwachsenen unterscheiden, nämlich das relative Übermaß des Kopfes und Untermaß der Extremitäten sich im Wachstum ausgleichen. Es kommt bei diesen Behauptungen alles darauf an, ob die Beobachtung sie ausreichend bestätige.

Die diesbezüglichen Daten finden wir bei Pirquet wiedergegeben gelegentlich der Darstellung des dritten zu besprechenden Maßes, der Indexzahl Gelidusi als des Maßes des Ernährungszustandes.

Dieser Index beruht im Grunde auf der Gegenüberstellung des Istgewichtes P und des Sollgewichtes Π. Setze ich beide in ein Verhältnis, so erhalte ich den Bruch $\frac{P}{\Pi} = J$, dessen Wert bei normalem Ernährungszustand, d. h. wenn das Istgewicht gleich dem Sollgewicht ist, gleich 1 sein muß. Abweichungen von diesem Wert würden demnach einen von der Norm abweichenden Ernährungszustand bedeuten, vorausgesetzt, daß für das Sollgewicht der zutreffende Wert eingesetzt wurde. Setze ich für Π die Formel ein, die nach Pirquet, wenigstens für Erwachsene und Säuglinge, die Abhängigkeit des Sollgewichtes von der Sitzhöhe ausdrückt, nach der $\Pi = \frac{S^3}{10}$ ist, so erhalte ich $J = \frac{10\,P}{S^3}$. Aus dieser Formel ergibt sich, wenn man auf beiden Seiten der Gleichung die dritte Wurzel zieht, die Pirquetsche Gelidusiformel $G = \frac{\sqrt[3]{10\,P}}{S}$.

Pirquet gibt nun die Indexzahl Gelidusi für muskelkräftige Erwachsene und fette Säuglinge, wie zu erwarten, mit 100% = 1 an. Beim heranwachsenden Kinde aber sei sie durchschnittlich ungefähr 94% = 0,94. Das kann nach dem oben Gesagten nichts anderes bedeuten, als daß die Ableitung des Normal- oder Sollgewichtes aus der Sitzhöhe, wie sie für Säuglinge und Erwachsene gilt, bei heranwachsenden Kindern nicht zutrifft, sondern hier, wenn wir den Überschlagswert 0,94 als Norm für diese Altersklasse anerkennen, die Formel lautet $\Pi = \frac{0{,}94^3\,S^3}{10}$. In diese Formel geht zwar die individuelle Sitzhöhe ein, sie ergibt aber doch nur Überschlagswerte innerhalb einer sehr im groben geschiedenen Altersklasse. Es trifft also der Satz, daß bei gleicher Entwicklung von Muskulatur und Fettpolster das Verhältnis zwischen dem Kubus der Sitzhöhe und dem Körpergewicht in allen Lebensaltern konstant sei, nicht ganz zu. Wäre das der Fall, so müßte der Normwert des Gelidusiindex für alle Altersklassen gleich 1 sein. Wie wir aber gesehen haben, ist er vom Lebensalter abhängig und zeigt während der Wachstumsjahre auch bei Individuen von normalem Ernährungszustand einen Gang durch ein Minimum. Diese Erscheinung erklärt sich, wenn wir uns über die Mitwirker Rechenschaft geben, die das Gewicht des Menschen bestimmen. Da besteht kein Zweifel, daß die konstitutionellen Bedingungen, die neben dem Ernährungszustande das Körpergewicht beeinflussen, in der Sitzhöhe allein nicht aus-

reichend erfaßt sind. So bleibt gewiß trotz dem gegenläufigen Wachstum von Kopf und Extremitäten ein wechselnder, unausgeglichener Rest im verhältnismäßigen Wachstum dort oder da, der Verschiebungen im Gewicht bei gleicher Altersklasse und Sitzhöhe bedingen muß. Sicherlich variiert auch die Masse des Skelettes zum Teil wenigstens unabhängig von der Sitzhöhe. Am schwersten aber wiegt, daß der Gelidusiindex die individuell gegebenen Verschiedenheiten im Umfang des Stammes nicht berücksichtigt[1]), woraus sich bei dem getrennten Gang der Längen- und Breitenzunahme während des Wachstums in erster Linie die charakteristische Veränderung des Normwertes für den Gelidusiindex während der Wachstumsjahre ergibt.

Fragen wir uns aber, ob nicht trotz alledem der Gelidusiindex ein brauchbares Maß des Ernährungszustandes sei, der sich in ihm über alle jene anderen Einflüsse hinweg doch Geltung verschafft, so müssen wir bekennen, daß gerade in dem Punkt die Darstellung, die Pirquet l. c. uns gibt, die befriedigende Aufklärung schuldig bleibt. Nur bei zwanzig Säuglingen wird ihrem Gelidusiindex das klinische Urteil über ihren Ernährungszustand gegenübergestellt, wobei sich ergibt, daß alle Säuglinge mit einem Gelidusi unter 91 deutlich mager waren. Bei den anderen Altersklassen fehlt diese Gegenüberstellung. Es wird hier als selbstverständlich behandelt, daß die Probanden mit niederem Gelidusi mager, die mit hohem fett seien und somit allgemein, wie Pirquet in bezug auf seine Messungen an Neugeborenen bekennt, „dem Beweis vorgegriffen, daß die Verschiedenheit des Gelidusi hauptsächlich vom Fettgehalt des Unterhautzellgewebes abhänge".

Mag nun auch einleuchtend sein, daß für die äußersten Werte der Ernährungszustand den Ausschlag gibt — es dürfte sich dann auch um Extreme des Ernährungszustandes handeln, die ohnehin für sich selbst sprechen —, so muß man sich im übrigen gerade für die heranwachsende Jugend, die Altersklasse, für welche die Beurteilung des Ernährungszustandes von besonderer Bedeutung ist, vor Augen halten, daß die Gelidusiformel nicht das Sollgewicht des Individuums, wie es seiner Konstitution entspricht, mit dem Istgewicht vergleicht, sondern einen sehr beiläufig ermittelten Überschlagswert davon, abgestuft nach Sitzhöhen innerhalb einer Altersklasse von weitem Umfang. Die dabei zu erwartenden häufigen und großen individuellen Abweichungen von diesem Maß lassen uns a priori erkennen, wie wenig wahrscheinlich es ist, daß man allein nach dem Gelidusiindex eines Individuums seinen Ernährungszustand irgend verläßlich beurteilen könne.

Was der Index als klinischer Behelf neben anderen klinischen Merkmalen des Ernährungszustandes diagnostisch leisten mag, darüber entscheidet natürlich die Praxis. Diesbezüglich wird ja gewiß schon ein reichliches Material sich ergeben haben.

---

1) Darauf weist H. Reichel hin in seinen Diskussionsbemerkungen zu einem Vortrag von B. Sperk über Anthropologie und Konstitutionsforschung, in denen eine Kritik des Gelidusiindex gegeben ist. Sitzungsbericht der Anthropologischen Gesellschaft in Wien vom 10. November 1920.

Günstiger als hier liegen die Verhältnisse bei der Verwendung des aus der Sitzhöhe sich ergebenden Sollgewichtes als Grundlage der Berechnung des Nahrungsbedarfes. Die Ernährungsfläche Siqua repräsentiert ja nichts anderes als die $\frac{2}{3}$ Potenz des Sollgewichtes. Indem nun Siqua bei allen Altersklassen in der gleichen Weise berechnet wird, ist die darin inbegriffene Wertung des Sollgewichtes hier zwar noch ungenauer als beim Gelidusiindex, da aber heranwachsende Kinder dadurch besser gestellt werden als Erwachsene, so wird man das kaum bemängeln wollen. Mehr als eine beiläufige Bemessung der Nahrungszufuhr ist überhaupt nicht zu leisten. Es handelt sich nur darum, einen gewissen Spielraum oberhalb einer nur sehr beiläufig bestimmbaren Grenze zu treffen. Die Vollwertigkeit des Zustandes und der biologischen Leistungsfähigkeit des Organismus ist keine so ausreichend definierte Größe, daß man ihre Erhaltung als Richtmaß zur Aufstellung einer scharfen Grenze benützen könnte.

Anderseits aber wird man nicht vergessen dürfen, daß das berechenbare Sollgewicht eben doch nicht das individuelle Sollgewicht ist und daß schon deshalb der individuelle Nahrungsbedarf von dem berechenbaren stark abweichen kann. Bei Massenausspeisungen wird es gerechtfertigt sein, im Überschlag schlechthin den Bedarf einzusetzen, der sich aus dem Siquamaß ergibt, da man damit rechnen kann, daß die individuellen Schwankungen des Nahrungsbedarfs sich tatsächlich zu Mittelwerten ausgleichen. Auch bei der Bemessung von Zubußen kann das Siquamaß ohne weiteres verwendet werden, wo eben der Ausgleich in der Kost anderweitig erfolgen muß. Soll aber die Individualverköstigung auf dieses Maß eingestellt werden, so muß man sich der bedeutenden Fehlerquellen in der Berechnung des Nahrungsbedarfes aus nur einem linearen Maß bewußt bleiben. Es wird da immer eine gewisse Bereitschaft zu Richtigstellungen erforderlich sein, damit berechtigte, individuelle Ansprüche nicht um einer Schablone willen verkürzt werden. Auch das psychische Moment ist dabei nicht zu übersehen. Auf ein so variables und nervöses Tier, wie es der Mensch ist, lassen sich die Methoden der landwirtschaftlichen Ernährungstechnik, wie z. B. die Klassenfütterung, nicht restlos übertragen. Die instinktive, scharfe Beobachtung des Pfleglings und die gefühlsmäßige Erfassung seiner Bedürfnisse, wie sie das Wesen der mütterlichen Betreuung ausmacht, ist selbst im geordneten Fürsorgewesen nicht ohne Schaden zu entbehren. Daß nach dem Pirquetschen System jeder Pflegling seinen Bedarf erhalte, nicht mehr und nicht weniger, wie Nobel schreibt, ist darum ein recht anfechtbarer Satz.

Trotz diesen Einwendungen kann zugegeben werden, daß bei unserer üblen Lage in diesem Punkte die Berechnung des Nahrungsbedarfes aus der Sitzhöhe einen Fortschritt bedeutet. Wir kennen ja sonst nur die Berechnung aus dem Istgewicht, die normalen Ernährungszustand voraussetzt, und für Heranwachsende den Gebrauch von Tabellen, die den Bedarf nur nach Altersklassen sehr obenhin abstufen. Demgegenüber bietet Siqua als Maß des Nahrungsbedarfes Vorteile.

Aber auch dieses Maß tritt innerhalb des Pirquetschen Systems in Verkleidung auf. Wenn Siqua gedeutet wird als die Größe der resorbierenden Darmfläche, so ist hier noch mehr als beim Nemmaß augenscheinlich,

daß es sich um ein Bild handelt und um nichts mehr. Und nur als Bild kann man diese Deutung zulassen. Wendet man eine solche Darstellung an, so muß man sich darüber Rechenschaft geben, daß man eine nur äußerliche Vereinfachung der Lehre vornimmt, bei der man bewußt Fehler begeht, deren Rechtfertigung nur in der Anpassung an gewisse praktische Zwecke gelegen ist.

Die umfassende Durchführung einer „quantitativen" Ernährungsfürsorge erfordert die Heranziehung von Hilfskräften aus Kreisen, die über eine speziell naturwissenschaftliche Vorbildung nicht verfügen. Zu einem ersprießlichen Mitwirken an der Aufgabe gehört aber ein zureichendes Mitwissen. Diese Forderung stellt uns nicht nur hier, sondern überall, wo man weitere Kreise zur verständigen Beteiligung an wissenschaftlich begründeten Unternehmungen heranziehen muß, vor die Aufgabe des Gemeinverständlichmachens der Wissenschaften; eine unlösbare Aufgabe, wenn man daran denkt, die Wissenschaften, wie sie gegeben sind, den Hörern ohne entsprechende wissenschaftliche Begriffsschulung zu überliefern; dagegen eine aussichtsreiche Aufgabe, wenn es sich nur darum handeln soll, durch entsprechende Methoden der Darstellung dem ungeschulten, bildhaften Denken des Laien die Kenntnisnahme von bestimmten wissenschaftlichen Ergebnissen zu ermöglichen. Die Ausbildung dazu geeigneter Methoden erscheint als eine ernste und wichtige Aufgabe unserer Zeit. Freilich werden durch einen solchen Vorgang, darüber ist kein Zweifel, Kreise von Eingeweihten und solche von Uneingeweihten voneinander geschieden. Man wird eine solche Scheidung heute kaum gelten lassen wollen, doch ist das letzte Wort damit wohl nicht gesprochen. Man beherzige, was Goethe schreibt: „Nur durch eine erhöhte Praxis sollten die Wissenschaften auf die äußere Welt wirken; denn eigentlich sind sie alle esoterisch und können nur durch Verbessern irgendeines Tuns exoterisch werden. Alle übrige Teilnahme führt zu nichts."

Gerade in dieser Hinsicht nun, in der Ermöglichung einer zweckmäßigen und nützlichen Teilnahme des Laien an der Übertragung der Wissenschaften auf Wirtschaft und Lebensführung scheint das Pirquetsche System ein urwüchsiger und glücklicher Versuch zu sein.

In der Milch als Maß des Nährwertes, in der Größe der Darmfläche als Maß des Nahrungsbedarfes setzt es leicht faßliche, „typische Vorstellungen" an Stelle schwer zugänglicher Begriffsverknüpfungen und wendet damit ein Denkmittel an, das dem ursprünglichen, naiven Denken eigentümlich ist. Auch das antike philosophische Denken, das um den Substanzbegriff zu ringen hatte und dem unser physikalischer Kraftbegriff noch verborgen war, half sich über die Schwierigkeiten, welche ihm die einfachsten, sinnlich wahrnehmbaren Veränderungen der Materie boten, durch die typischen Vorstellungen der vier Elemente hinweg, die als Träger der tastbaren Qualitäten der Materie, des Trockenen und Feuchten, des Warmen und Kalten erschienen. Die Aufstellung eines Elementum nutrimenti ist nichts anderes als ein spätes Beispiel der Verpersönlichung wichtiger Qualitäten, der Setzung einer typischen Vorstellung an Stelle eines schwer zugänglichen Begriffsverbandes. Auf diese Weise, durch die Übernahme seines liebsten Denkmittels kommt das Pirquetsche System

dem ursprünglich naiven Denken so wirksam entgegen. Darauf beruht nicht zum wenigsten seine rasche und leichte Aufnahme in weiten Kreisen.

Der Gewinn, daß so der Blick des Laien auf die für die Praxis entscheidenden Punkte der Ernährungslehre eingestellt wird, ohne daß vollkommene Einsicht erfordert wird, bleibt aber nicht unverkürzt. Denn auf der anderen Seite liegt es nur zu nahe, daß der Laie, dem in der vereinfachten Darstellung des Systems die behandelten Aufgaben einfach und durchsichtig erscheinen, sich über den erhaben fühlt, der mit ihrer ganzen Verwickeltheit belastet ist, und daß er sich der wissenschaftlichen Führung entwindet. Auch kommt unser System einer recht verbreiteten, üblen Neigung entgegen, die man wohl als kabbalistisch bezeichnen darf, indem sie Zufälligkeiten der Zahl, der Buchstaben oder Worte als die Offenbarungen des Urgrunds einer höheren Ordnung faßt. Daß die „Ernährungsfläche" dem Quadrat der Sitzhöhe gleich ist, die dritte Potenz aus der Sitzhöhe dem zehnfachen Gewicht entspricht, die Indexzahl des Gelidusi hundert beträgt, diese Äußerlichkeiten werden nicht nur als eine Erleichterung für das Gedächtnis geschätzt, sondern sie geben diesen Formeln auch einen besonderen Zauber. Mögen andere Formeln und Maße im Grunde das gleiche leisten, jenen wird immer eben wegen jener Zufälligkeiten der Form eine tiefere Bedeutung zugeschrieben werden. Dazu kommt noch der fremdländische Wohlklang der geheimnisvollen Wortmarken, mit denen das System sich eine eigene Sprache geschaffen hat; Grund genug, daß der Nemjünger sich im Besitz besonderer Kenntnisse glaubt, die nur die Nemlehre zu überliefern vermag, und daß er einer schulmeisterlichen Befangenheit weitgehend verfällt.

Angesichts dieser starken, geistigen Beeinflussung, die von dem Pirquetschen System ausgeht, sehen wir uns schließlich vor die Frage gestellt, wie denn der akademische Unterricht sich zu dem System zu stellen habe. Vorausgeschickt mag hier gleich werden, daß, wenn wirklich eine Vereinbarung über eine abgekürzte und vereinfachte Darstellung der Ernährungslehre für die Zwecke der Ernährungspraxis notwendig sein sollte, auch der Student der Medizin selbstverständlich eingehend darin zu unterweisen wäre. Sind damit Bedenken verbunden, so wird man sich darüber Rechenschaft geben müssen, um Schäden durch geeignete Gegenmaßregeln vermeiden zu können. Gewisse Bedenken ergeben sich aber unmittelbar aus dem Wesen des Pirquetschen Systems eben deshalb, weil es die schwierigen Begriffsverbände umgeht und durch anlockende Vorstellungen ersetzt. Die gründliche, naturwissenschaftliche Begriffsschulung muß als eine Hauptaufgabe des medizinischen Unterrichtes gelten. Alles nur auf Anschauung und Erfahrung stellen zu wollen, wie manche einseitige Pädagogen anstreben, erscheint auch im medizinischen Unterricht bedenklich. Ja, es wäre bei der herrschenden Verwilderung des Denkens gewiß nur nützlich, wenn in den Unterrichtsbetrieb etwas mehr formale Logik hineingetragen werden könnte. Jedenfalls sollte der Mediziner die naturwissenschaftlichen Begriffe, deren wir uns bedienen, in ihrer ganzen Verwickeltheit und Fragwürdigkeit kennen lernen. Ihn zum Beispiel um den schwierigen Begriff des Nährwertes durch Hilfsvorstellungen herumzuführen, wäre doch wohl unzulässig. Und auch sonst muß

der Mediziner gewiß noch vieles aus der Ernährungslehre aufnehmen und verarbeiten, was im Pirquetschen System keinen Platz findet. Es liegt im Wesen des Systems, von allen Verwicklungen abzusehen. Er wird dadurch zu gewissen Leistungen befähigt, die sonst nicht zu erreichen sind, aber es sind ihm andere versagt, die auch unentbehrlich sind. Hier sind Gegenwirkungen notwendig, für die der Mediziner nur durch den eingehenden Unterricht in der exakten, naturwissenschaftlichen Ernährungslehre geschult werden kann. Nur unter dieser Voraussetzung kann das Pirquetsche System durch die Vereinfachung der Praxis und die Erleichterung der Ordnung, die es schafft, in der Ernährungsfürsorge vorteilhaft wirken. „Wissenschaften entfernen sich im ganzen immer vom Leben und kehren nur durch einen Umweg wieder dahin zurück", lesen wir bei Goethe. Auf ihren eigenen Wegen ist die Wissenschaft frei, nur bestimmt durch das Wesen der menschlichen Erkenntnis. Jene Umwege aber müssen durch Vereinbarungen bestimmt werden, wenn unser Vorgehen in der Praxis einheitlich bleiben soll. Auch in der Ernährungsfürsorge benötigen wir vereinbarter Bindungen. Ein Ausschuß von Fachleuten sollte sie einmal festlegen. Das Pirquetsche System dürfte dabei wenigstens eine brauchbare Verhandlungsgrundlage bilden.

Über die Darstellbarkeit polgefärbter (pestbazillenähnlicher) Stäbchen bei verschiedenen Bakterienarten. Die Polfärbbarkeit als vitale, durch Bakterienwachstum in wasserreichen Nährmedien bedingte Erscheinung.

Von

Dr. Emil Epstein.

(Aus der Prosektur des Franz Josephspitals in Wien (Vorstand: Professor Dr. Oskar Stoerk).

(Mit 1 Tafel.)

(Bei der Schriftleitung eingegangen am 19. Januar 1921.)

Die Pestbazillen und die diesen verwandten Bazillen der Gruppe der Erreger der hämorrhagischen Septikämie bei Tieren (Pasteurellosen) weisen nach der vorliegenden Literatur als eine besonders charakteristische morphologische Eigentümlichkeit Polfärbung auf, die insbesondere in Ausstrichpräparaten zu beobachten ist, welche direkt aus menschlichen bzw. tierischen Leichenteilen oder Exsudatflüssigkeit angefertigt werden. In Präparaten aus Reinkulturen findet man die typischen Formen weniger häufig als im Organismus. Für die Darstellung der Polfärbung ist nicht nur die Provenienz des Ausgangsmateriales, sondern auch die Behandlung der Ausstrichpräparate von großer Bedeutung.

Zur deutlichen und konstanten Darstellung ist nach Sobernheim, sowie nach Kossel und Overbeck[1]) Alkoholfixation und Färbung in der später zu erörternden Weise (mit verdünnter wässeriger Lösung von alkalischem Methylenblau, Löfflers Methylenblau oder Karbolfuchsin) unbedingt erforderlich, da in Präparaten, welche durch Hindurchziehen durch die Flamme fixiert wurden, die Pestbazillen die Polfärbung „gar nicht oder nur andeutungsweise“ erkennen lassen. Schöne Bilder zeigen nach Kossel auch Präparate, welche nach Alkoholfixation mit Romanowsky-Farbmischung gefärbt waren. Kitt[2]) rühmt in seiner Bearbeitung der Septikämie der Vögel (Hühnercholera) besonders die May-Grünwald-Färbung als geeignet

1) Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 1912, 2. Aufl., 4. Bd., S. 162.

2) Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 1913, Bd. VI, S. 38.

für die Darstellung der Polfärbung, eine Färbung, welche Alkoholfixation zur Voraussetzung hat, und warnt vor intensiver Farbimprägnierung (Karbolfuchsinfärbung und Erwärmung).

F. Hutyra[1]) führt an, daß der Bacillus bipolaris septicus Flügge, der Erreger der hämorrhagischen Septikämie der Tiere, in typischer Weise in Strichpräparaten aus Körpersäften im Blute cholerkranken Geflügels gefunden wird, und erwähnt, daß besonders schöne Bilder mit Giemsa-Färbung zu erhalten sind (l. c. Abb. Fig. 1, S. 67). In Reinkultur gelingt die Darstellung der Pole mit wässerigen Verdünnungen alkoholischer Anilinfarbstofflösungen in der üblichen Weise nicht oder sehr mangelhaft, wohl aber bei Präparaten aus ganz frischen Kulturen ohne vorherige Flammenfixation in direkter Färbung mit Karbolfuchsin etwa durch ½—1 Sekunde.

Der Nachweis polfärbbarer Stäbchen führte zu wiederholten Malen zur Annahme, daß derartige Keime als Vertreter der Pasteurella-Gruppe in ätiologischer Beziehung zum betreffenden Krankheitsprozeß stehen könnten.

Eugen Fränkel und F. Pielsticker[2]) berichteten über ein angeblich in die Erregergruppe der hämorrhagischen Septikämie gehöriges menschenpathogenes Bakterium, das sie Bacterium anthroposepticum nannten (1909). Vor kurzem wies Eugen Jenicke[3]) in der Gallenblase eines an akuter gelber Leberatrophie verstorbenen Patienten Polstäbchen nach, welche er ursprünglich in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämie einreihen zu sollen glaubte. Die eingehende kulturelle Untersuchung ergab jedoch, daß es sich um einen Stamm von Bacterium coli commune gehandelt habe. Da er auf keinem der von ihm angewandten künstlichen Nährböden die auffallende Form wieder erreichen konnte, glaubte er, die pathologisch veränderte Gallenblasenflüssigkeit mit der Entstehung dieser „bakteriologischen Merkwürdigkeit" in Zusammenhang bringen zu müssen. Der Befund polgefärbter Stäbchen, den Nestlinger[4]) bei einem Falle von Colitis ulcerosa erhob, ist wohl in ähnlicher Weise zu deuten.

Karl Spengler[5]) bezeichnet in seiner Mitteilung „Über die spanische Grippe" ein bipolar gefärbtes Stäbchen, welches er im Sputum Grippekranker nachgewiesen hat, als den Erreger der Grippe und empfiehlt zur Darstellung der Polfärbung ausschließlich Alkoholfixation mit nachfolgender Färbung in alkalischen Anilinfarblösungen. Spengler fand, daß das von ihm nachgewiesene Polstäbchen bei Grippe mit dem echten Pestbazillus bezüglich Morphologie, Pleomorphismus usw. eine so frappante Ähnlichkeit habe, daß er an Stelle einer besonderen Abbildung auf diejenige der Pestbazillen in Kolle-Hetsch, Handbuch der experimentellen Bakteriologie, hinweist. Auch bezüglich der Beschreibung zitiert Spengler wörtlich Stellen aus dem genannten Werke. Trotz dieser auffälligen Ähnlichkeit äußert sich jedoch Spengler ganz strikte dahin, daß das gefundene Polstäbchen, welches er als den Erreger der Grippe anspricht, keineswegs mit dem Pestbazillus identisch sei, wohl aber mit diesem gemeinsam in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämie einzureihen wäre.

Als mir anfangs Februar 1919 der Inhalt der Spenglerschen Arbeit bekannt wurde, unterzog ich die Ergebnisse derselben einer Nachprüfung. Das Material entstammte der Prosektur des Franz Joseph-Spitales, sowie, soweit Sputen, Harne und Blutproben in Betracht kamen, der Infektionsabteilung des genannten Spitales. Über die Resultate meiner Untersuchungen berichtete ich im Juni 1919 in Form einer vorläufigen Mitteilung in der Gesellschaft für innere Medizin in Wien.[6]) Der Inhalt dieser Mitteilung sei, soweit er sich auf das morphologische

---

1) Kolle-Wassermann, Handb. d. path. Mikroorg. 1913, Bd. VI, S. 64 u. ff.
2) Zeitschr. f. Hyg. 1909, Bd. 64, 145.
3) Deutsche med. Wochenschr. 1919, Nr. 22.
4) Zentralbl. f. Bakt. 1919, I. Abt., O.-Bd. 82, S. 425.
5) Mitteilungen aus dem Institut Dr. Karl Spenglers in Davos, 1919, I. Bd., 1. Heft.
6) Sitzungsbericht vom 15. Mai 1919, Wien. med. Woch. 1919, Nr. 37.

Verhalten der Spengler'schen Polstäbchen bezieht, hier zunächst in Kürze rekapituliert.

Mittels der bereits erwähnten Fixations- und Färbetechnik liessen sich die Polstäbchen in Ausstrichpräparaten aus dem Bronchialsekrete und dem Gewebssafte der Lungen von an Grippepneumonie zugrunde gegangenen Leichen und in einzelnen untersuchten Fällen auch in Schnittpräparaten aus solchen Lungen, sowie auch im Auswurfe Grippekranker regelmäßig nachweisen. Niemals gelang jedoch der Nachweis in steril eingesandten Blutproben. — Die Stäbchen erscheinen als vakuolisierte, meist kürzere, aber auch etwas längere, häufig als Diplobazillen und in kurzen Ketten oder irregulär gelagerte, polgefärbte Stäbchen, daneben finden sich sehr kurze Formen, bei denen die Vakuolen als nur mehr sehr schmale, quere Schlitze erscheinen, so daß die kurzen Endstücke den Eindruck von Kokken hervorrufen, demnach eine Einzelform das Aussehen eines Diplokokkenpaares in Semmelform vortäuscht, ferner kurze, ovoide Formen, hie und da Kugelformen, Siegelringformen mit Vakuolen usw., daneben aber auch kurze Stäbchen ohne Vakuolen. Wenn auch zugegeben werden muß, daß ein Teil dieser Erscheinungsvarianten auf die verschiedene Achsenstellung der Stäbchen zurückgeführt werden könnten, so handelt es sich im wesentlichen doch unleugbar um einen auch beim Pestbazillus beschriebenen, ganz auffälligen Pleòmorphismus. — Im Gegensatze zu den Bildern bei der Pest fehlen ausgesprochene Involutionsformen und sind auch durch Züchtung auf 3—4% Kochsalz- und hochprozentigem (5%) Glyzerinagar nicht in der typischen Weise zu erzielen. Dennoch findet man hie und da Andeutung von Involutionsformen. — In Grampräparaten (Trockenfixation) erscheinen die Formen als gewöhnliche Vollstäbchen, meist Gramnegativ, aber auch Grampositiv. — Die Darstellung der Polfärbung gelang mir jedoch ausschließlich mittels der auch von Spengler empfohlenen Alkoholfixation und nachfolgender Färbung mit wässeriger Anilinfarblösung in Präparaten, die aus in flüssigen Nährböden gezüchteten Kulturen gewonnen worden waren. Versuche, die polfärbbaren Stäbchen auch mit diesem Färbeverfahren in Ausstrichpräparaten von auf festen Nährböden gewachsenen Kulturen zur Darstellung zu bringen, führten zu keinem Erfolge. Bezüglich des kulturellen Verhaltens und der Tierpathogenität siehe die zitierte Originalmitteilung.

Hundeshagen[1]) hat ¾ Jahre nach Spengler (Oktober 1919) einen „Bazillus aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie bei einem Falle von Influenzapleuritis" beschrieben. Die zarten Stäbchen wachsen auf Blutagar ähnlich dem Pfeifferschen Bazillus. Üppiges Wachstum aus Aszites-Agar schloß jedoch diese Diagnose aus. Im Tierversuche erwies sich der Erreger tierpathogen und zeigte in Präparaten aus Gewebsabstrichen teils die bei Hühnercholera beschriebenen kokkenähnlichen Formen „Kokkobazillen", teils pestbazillenähnliche Formen von ovoider Gestalt mit Polfärbung. Insbesonders aus letzterem Grunde reiht Hundeshagen das nachgewiesene Stäbchen in die Gruppe der Erreger der Septikämie der Tiere ein, indem er die Polfärbung als besonders charakteristische Eigenschaft dieser Gruppe bezeichnet.

Weitere Bestätigungen der Spenglerschen Befunde erfolgten durch Coronini und Prisel[2]).

Es soll nicht Gegenstand vorliegender Mitteilung sein, die Frage zur Entscheidung zu bringen, ob die Spenglerschen Polstäbchen etwa als Erreger der Grippe in Betracht kommen könnten. Abschließende Untersuchungen über diese Frage mußten aus Materialmangel aufgegeben werden. Auffällig schien mir jedenfalls, daß der kleine Bazillus im Gegensatze zu den Bazillen der hämorrhagischen Septikämie und zum Pestbazillus mit verschiedenen Zuckerarten Gas bildet und sich vom Pestbazillus außerdem noch durch sein Wachstum im Bouillon und dadurch unterscheidet, daß er Milch koaguliert.

1) Berliner klin. Wochenschr. 1919, Nr. 41.
2) Med. Klinik 1920, Nr. 5.

Dies sowie insbesondere auch der Nachweis einer mäßig lebhaften Eigenbeweglichkeit schien mir im Zusammenhalt mit dem sonstigen kulturellen Verhalten auf Agar und Gelatine[1]) darauf hinzuweisen, daß die beschriebenen Stämme in die **Koligruppe** einzureihen seien.

Daraus ergab sich als eine weitere Frage, die den Gegenstand der vorliegenden Arbeit bildet, ob die Polfärbbarkeit überhaupt als morphologisches Charakteristikum bestimmter Bakterienarten (Pasteurellagruppe, Pest) in Betracht kommt, oder ob dieselbe nicht vielmehr eine viel allgemeinere morphologische Eigenschaft verschiedener, auch mit den genannten Gruppen nicht verwandter Bakterienarten darstellt. In der Folge wurde dementsprechend der Kreis der in Beobachtung gezogenen Bakterienarten erweitert. Und in der Tat zeigte sich, daß nicht nur Bacterium coli, sondern auch Bacterium typhi Eberth, paratyphi B, dysenteriae Shiga-Kruse und Flexner die typischen Bilder von Polstäbchen in deutlichster Weise zeigen.

Zu der von mir angewandten Technik der Darstellung der Polfärbbarkeit sei folgendes bemerkt:

Von jedem Stamm werden Objektträgerausstrichpräparate aus 24stündigen Bouillon-Kulturen angefertigt. Ferner wurden auch Präparate aus Peritonealexsudat und dem Herzblute eingegangener Versuchstiere (Meerschweinchen) gestrichen, die teils mit den aus dem Grippematerial gezüchteten Stämmen, teils mit Bacterium coli commune intraperitoneal infiziert worden waren[2]). Von dem Peritonealexsudat und dem Herzblute der eingegangenen Tiere wurden Ausstriche angefertigt und tinktoriell in derselben Weise behandelt wie die Kulturausstriche. Außerdem wurden zum Vergleiche auch Präparate von Agarkulturen gestrichen. Die Beschreibung derselben ist jedoch nur für das Spenglersche Polstäbchen gegeben, die auch für Bacterium coli gelten kann, wofür die Fig. 4 und 7 Zeugnis legen. Auch von der Beschreibung der die übrigen Stämme betreffenden Präparate wurde Abstand genommen, da es sich um analoge Befunde handelt.

Zur Darstellung der Polfärbung wurde das folgende, zuletzt von Spengler empfohlene Verfahren angewendet.

Die lufttrockenen Ausstriche werden mit 95% Alkohol übergossen. Der Alkohol braucht nicht länger als 2 bis 3 Minuten einzuwirken. Hierauf wird der Alkohol abgegossen und langsam abgedunstet oder über der Flamme abgedampft; gerät hierbei der Alkohol in Brand, so schadet dieser Vorgang der Darstellbarkeit der Polfärbung in keiner Weise. Hierauf wird mit wässerigen Verdünnungen alkoholischer Farblösungen von Anilinfarbstoffen, am besten mit Löfflers Methylenblau oder Fuchsinrot gefärbt, eventuell leicht über der Bunsenflamme erwärmt und sodann ganz kurz mit ½ proz. wässeriger Essigsäurelösung differenziert, in Wasser abgespült, getrocknet und eingeschlossen. Die Differenzierung in ½ proz. Essigsäure ist nicht unbedingt erforderlich, sie gibt nur Bilder in zarterem

1) Vgl. die Originalmitteilung, loc. cit.

2) Der Obduktionsbefund der eingegangenen Tiere war für beide Stämme analog, siehe Originalmitteilung, l. c.

Farbenton, während ohne Differenzierung die Polfärbung ebenso deutlich in Erscheinung tritt. Eine sehr klare Darstellung der Polstruktur gelingt auch bei der Färbung mit Giemsa-Lösung, insbesondere in Ausstrichen aus Blut oder Exsudat von Versuchstieren mit und ohne vorherige Alkoholfixation.

Bei dieser Gelegenheit sei gleich vorweggenommen, daß das Phänomen der Polfärbung mittels der angewandten Fixations- und Färbetechnik bei sämtlichen im folgenden untersuchten Bakterienarten, bei denen es darstellbar ist, in klassischer Weise nur in Ausstrichpräparaten zu erzielen ist, die aus Kulturen, welche auf flüssigem Nährboden (Bouillon) gewachsen waren, oder aus dem Gewebssaft der Versuchstiere gewonnen wurden. Bakterienausstriche in Präparaten von Agarkulturen lassen im allgemeinen die Polfärbung nur undeutlich und nur auf einen Teil der Exemplare beschränkt erkennen, während schmälere Langstäbchen ohne Vakuolenbildung, kokkenähnliche Kurzstäbchen in irregulärer Anordnung, in Diploformen oder in kurzen Ketten das mikroskopische Bild beherrschen. Jeder Versuch, mittels Hitzefixation Polfärbung zu erzielen, mißlang vollkommen auch bei Präparaten aus Kulturen, die auf flüssigen Nährböden gezüchtet worden waren (Fig. 8).

Auf Grund dieser Feststellung wird, einige Stichproben ausgenommen, im allgemeinen von einer Beschreibung in der gewöhnlichen Weise mit Fixation in der Flamme hergestellter Ausstriche abgesehen.

Einigermaßen befriedigende Bilder gibt die von Hornicker[1]) aus dem Institute Paltauf empfohlene Färbetechnik.

Es folgt nun die Beschreibung der Objektträgerausstrichpräparate der untersuchten Stämme an der Hand des Untersuchungsprotokolles.

Der mikroskopischen Beobachtung diente das homogene Immersionsobjektiv, Brennweite $^1/_{12}$, Apertur 1·4 mit dem Arbeitsokular Nr. 8, als Lichtquelle wurde das direkte Tageslicht benützt.

1. Bacillus septicaemiae haemorrhagicae Hueppe*). Stamm: „B. cholerae gallinarum Würzburg“*)[2]). Präparate aus Bouillonkultur (Fig. 1). Durchschnittlich etwas über 1 μ lange Stäbchen von schlanker Gestalt mit abgerundeten Enden. Die Pole stark tingiert, die tingierte, polare Zone beiderseits halbmondförmig nach innen zu eingebuchtet, gegen das Innere an Färbungsintensität rasch abnehmend. Der farblose oder nahezu farblose, gelegentlich als Vakuole beschriebene Innenraum zeigt elliptische Gestalt und hie und da einen kaum wahrnehmbaren, bläulichen Schimmer. In wenigen Exemplaren wird dieser bläuliche Farbenton deutlicher. Nach außen ist der Bakterienleib ringsum scharf abgegrenzt, es findet sich allenthalben ein ganz schmal gefärbter Randsaum, der sich scharf gegen das farblose Innere (Vakuole) absetzt. Die Bezeichnung Vakuole wird in folgendem der Kürze halber für den farblosen, rundlichen Innenraum rein deskriptiv gebraucht, ohne zunächst über die Natur dieses Gebildes irgend etwas aussagen zu wollen. Die Größe der Bakterien ist jedoch variabel, das ganze Bild stark pleomorph, neben schlankeren, bei weitem plumperen Exemplaren von Langstäbchen (Länge 2,75 μ) bis zu kurzen, ovalären

1) Zentralblatt f. Bakt. O. Bd. 32, S. 927.

2) Die mit *) bezeichneten Stämme wurden aus der vormals Kralschen, von Professor Ernst Pribram in Wien geleiteten Sammlung bezogen, vgl. Pribram, Der gegenwärtige Stand der vormals Kralschen Sammlung. Wien 1919 (Katalog).

Formen in Diplo-Anordnung (Diplobazillen) variierend, letztere auf knapp vorher erfolgte Teilung hindeutend. In anderen Exemplaren füllen die Pole wieder den Bakterienleib bis auf einen schmalen, quergestellten Spalt aus, der Randsaum fehlt nahezu vollkommen oder ist unsichtbar, indem er keinen Farbstoff aufnimmt, so daß das Einzelindividuum förmlich als Diplokokkenpaar erscheint. Andere Kurzformen zeigen nur schwach tingierte Pole. Daneben Exemplare, die in toto blaßblau gefärbt sind.

2. Bacterium septicaemiae haemorrhagicae.*) Stamm: „B. cholerae gallinarum Ficker". Präparate aus Bouillonkultur. Zahlreiche, schlanke, satt gefärbte Vollstäbchen, etwa 0,5 bis 1,5 μ lang, 0,2 bis 0,3 μ breit. Daneben gleichfalls schlanke, beträchtlich blässer tingierte Formen mit stark hervortretenden, mehr punktförmigen Polen. Einzelne Exemplare von plumperer Gestalt mit derben Polen. Die Färbungsintensität nimmt von den Polen aus gegen den unregelmäßig begrenzten, fast farblosen Innenraum ziemlich unvermittelt ab. Einzelne, fadenförmige Involutionsformen von beträchtlicher Länge und gleichmäßiger Färbung. Einzelexemplare, die die übrigen an Länge (2 bis 3 μ lang) beträchtlich übertreffen, zeigen sehr deutliche Polfärbung. Alles in allem auffälliger Pleomorphismus.

3. Bacterium septicaemiae haemorrhagicae*). Stamm: „Tuberkuloseähnlicher Abszeß bei Kaninchen Zeiß." Die Länge beträgt durchschnittlich etwa 0,75 bis 1 μ, in Einzelexemplaren bis 1,5 μ. Die Stäbchen zeigen ausschließlich schlanke Gestalt. Die Polenden sind abgerundet, die Pole selbst intensiv, in einzelnen Exemplaren besonders stark tingiert, die farblose Innenzone ist mehr elliptisch geformt. Besonders die langen Exemplare zeigen schöne Polfärbung, neben den beschriebenen Formen kurze Vollstäbchen und Rundformen (kokkenähnliche Gebilde).

4. Das Spenglersche Polstäbchen. a) Präparate aus älterer Bouillonkultur. Durchschnittliche Länge der Stäbchen 1,5 μ, einzelne Riesenexemplare mit 2,0 bis 2,5 μ, daneben kurze Formen mit 0,5 μ und noch geringerer Länge. Die Breite der einzelnen Individuen ist schwankend und erreicht bis 0,4 μ. Im allgemeinen sehr ausgesprochener Pleomorphismus bezüglich Länge und Dicke. Neben einzelnen, plumperen Stäbchen schlanker geformte Gebilde.

Die Durchschnittsformen sind ziemlich schlank, an den Enden abgerundet, die Pole satt gefärbt, an den Polenden besondere Färbungsintensität aufweisend. Gegen das Innere nimmt die Färbung rasch ab, der Hohlraum im Innern zeigt meist elliptische Gestalt und ist entweder fast farblos oder höchstens in einem kaum wahrnehmbaren, blaßbläulichen Timbre gefärbt. Die Form des Hohlraumes ist länglich, an den Polen mehr wenig abgerundet. Der Randsaum ist ringsum äußerst schmal und scharf nach innen abgegrenzt. Die Pole sind nicht immer gleichmäßig tingiert, häufig ist der eine Pol beträchtlich stärker als der andere gefärbt und um die Hälfte voluminöser als der andere. Riesenexemplare (Länge 2,5 μ) zeigen das Innere des Körpers in blaßblauem Farbenton, aber auch in diesen Exemplaren heben sich die Pole durch ihre intensive Färbung als differente Bestandteile recht scharf ab. In kurzen Formen findet man bisweilen die Pole von mehr rundlicher Gestalt, satt gefärbt, mit deutlich zentraler, farbloser Zone, in vielen Exemplaren ist die Zwischenzone wieder sehr schmal in Form eines quer gestellten Schlitzes, ohne erkennbaren Randsaum, so daß die Gestalt wie bei den früher beschriebenen Formen diplokokkenähnlich wird. Daneben finden sich auch einzelne, fast kokkenförmige Kurzstäbchen mit und ohne zentrale Vakuole.

b) Andere Präparate aus einer um viele Generationen älteren Kultur zeigen im allgemeinen ziemlich plumpe, im allgemeinen in der Länge um 1 μ schwankende Stäbchen. Auch hier wieder zeigen sich ausgesprochene Größendifferenzen: neben kurzen, 0,5 μ langen Exemplaren reichliche, noch kürzere Formen mit Schlitzbildung, so daß wieder die Diplokokkenform vorgetäuscht erscheint. Die Enden meist nicht abgerundet, mehr kantig begrenzt, die Pole in einzelnen Exemplaren mehr körnchenförmig, in anderen wieder förmlich zylindrisch, gegen das Innere an Färbungsintensität rasch abnehmend. Deutlich umrissene Konturen mit schmalen Randzonen, gegen das Innere sich als Randsaum scharf differenzierend.

Die farblosen Innenräume zeigen eine mehr geradlinig begrenzte Form in Gestalt eines Rechteckes bzw. Quadrates. Ausgesprochener Pleomorphismus in bezug auf Länge und Dicke.

c) Präparate aus dem Peritonealexsudat eines durch intraperitoneale Einverleibung einer Aufschwemmung von Grippestäbchen eingegangenen Meerschweinchens zeigen folgende Bilder: Die Stäbchen ausgesprochensten Pleomorphismus, überwiegend kürzere, etwa 0,4 bis 0,6 μ lange Stäbchen von schlanker Gestalt, daneben mehr bauchige, beträchtlich längere, 1,5 μ lange Stäbchen mit durchwegs abgerundeten Enden. Die Pole durchwegs deutlich tingiert, nach innen zu rasch an Färbungsintensität abnehmend; in einzelnen, mehr bauchigen Formen füllen die Pole fast den ganzen Bakterienleib aus, die Innenzone ist farblos. Andere, meist längere Exempare zeigen deutliche Tinktion auch des Innenraumes. Außerdem spärliche Kurzstäbchen mit Polen, Diploformen, einzelne kurze Vollstäbchen und kokkenähnliche Gebilde.

d) Präparate aus dem Herzblute eines mit Polstäbchen experimentell geimpften Meerschweinchens, gefärbt mit Giemsas Farblösung (Fig. 3). Die Erythrozyten erscheinen als karminrot gefärbte Scheiben mit einem Durchmesser von 3 bis 4 μ. Die Stäbchen sind im allgemeinen von zartem Bau und schlanker Gestalt, etwa 0,75 μ lang und 0,3 μ breit. Die Pole sind sehr deutlich und intensiv gefärbt, nehmen an Färbungsintensität gegen die ungefärbte Innenzone zu rasch ab. Die Pole zeigen häufig deutliche Färbungsintensitäts- und Massenunterschiede, indem der eine Pol ziemlich voluminös und gut gefärbt, der andere zart und ganz blaß tingiert erscheint. Einzelne Exemplare sind unipolar. Auch in dem Blutausstrich wieder Kurzstäbchen mit nur schmalem Querspalt, als Diplokokken imponierend. Einzelne ovaläre Kokkenformen ohne farblose Innenzone. Sehr deutlicher Pleomorphismus bezüglich Länge, Breite und Gesamtvolumen.

e) In Präparaten aus Agarkulturen (Fig. 4), die durch Verreiben von etwa $^1/_{10}$ Öse Kultur in einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung auf dem Objektträger hergestellt wurden, zeigt sich ein vollkommen geändertes Bild. Vor allem fällt das dürftige Aussehen der Bakterien auf. Neben äußerst schmalen Langstäbchen (Länge etwa 1 μ), die nur bei schärfster Beobachtung einen schwächer tingierten Längsspalt und stärkere Polfärbung erkennen lassen, reichlich Kurzformen, stellenweise in Diplolagerung, hie und da in Kettenanordnung, ferner mäßig zahlreiche Kugelformen. Gelegentlich zeigen sich diplokokkenähnliche Gebilde. Polfärbung fehlt in einer großen Zahl der Exemplare vollkommen, vielfach ist sie kaum angedeutet und nur bei schärfster Beobachtung eben noch erkenntlich, nur in ganz vereinzelten, etwas plumperen Kurzformen, die aber gegenüber den Formen aus flüssigem Nährboden gleichfalls auffallend schmächtig und kümmerlich aussehen, deutliche Polfärbung und Vakuolenbildung. Das Phänomen ist aber auch in diesen Exemplaren keineswegs entfernt so klar ausgeprägt als in den früher beschriebenen Präparaten der in flüssigen Nährböden gezüchteten Stämmen.

5. Bacterium coli commune (stammt aus der Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitales mit der Bezeichnung Coli 30).

a) Präparate aus Bouillonkultur mit Methylenblau-Färbung (Fig. 5). Länge variiert und ist im allgemeinen zwischen 0,5 und 1 μ ,einzelne Exemplare sichelförmig andere zeigen mehr granulaähnliche Form, man sieht hier wieder zahlreiche Doppelstäbchen, die sich an den Polen zu berühren scheinen (Teilungsformen). Hie und da auch plumpere Gebilde. Einzelne diplokokkenähnliche Formen. In einigen auffällig langen Exemplaren ist die Innenzone bei deutlich ausgeprägter Poltinktion blaßblau tingiert.

b) Präparate mit Fuchsinfärbung zeigen im allgemeinen identische Bilder. Formen teils schlank, teils plump, Polenden abgerundet, Pole sehr satt gefärbt, gegen das Zentrum zu fast unvermittelt in die farblose Innenzone übergehend. Ziemlich zahlreiche, sehr kurze Rundformen von elliptischer Gestalt mit ausgesprochener Vakuolenbildung, daneben diplokokkenähnliche Formen mit querem Schlitz. Ein Riesenexemplar von auffälligem Längenwachstum (Länge ca. 3 μ) zeigt die Pole mehr granulaartig in Form distinkter, mehr rundlicher Gebilde, der eine Pol sehr stark und distinkt gefärbt, der andere nimmt in seinem

Farbenton allmählich gegen das Zentrum zu ab, das Zentrum selbst ist fast farblos, zeigt nur einen leicht rosa gefärbten Timbre.

c) Mit Giemsafarblösung gefärbte Präparate aus dem Herzblute eines Versuchstieres (Meerschweinchen) (Fig. 6). Die roten Blutkörperchen erscheinen als karminrot gefärbte Scheiben mit einem Durchmesser von 5 μ. Typischer Pleomorphismus. Länge beträgt im allgemeinen 0,5 bis 1,2 μ. Zahlreiche, besonders die kürzeren Exemplare, zeigen Rundformen von elliptischer Gestalt mit sehr distinkter Polfärbung und mit farbloser Vakuole. Auch hier nimmt die Färbungsintensität vom Pole aus gegen das Innere an Färbungsintensität rasch ab. Die größeren Exemplare zeigen hie und da den Innenraum in einem deutlich bläulichen Timbre. Beide Pole sind nicht immer gleich gestaltet, einzelne, besonders längere Exemplare zeigen den einen Pol sehr satt gefärbt mit sichelförmigen Ausladungen gegen das Zentrum, den anderen mehr blaßblau und zylindrisch geformt. Einzelne zarte Vollstäbchen und Kokkenformen.

d) Präparat aus Agarkultur. Beschreibung entspricht der Beschreibung der analogen Präparate vom Spengler'schen Polstäbchen (4c) (vgl. Fig. 4).

6. Bacterium typhi Eberth (entstammt der Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitales) (Fig. 7).

a) Präparate aus Bouillonkulturen zeigen kurze, 0,3—0,5 μ lange, an den Enden abgerundete Formen. Pole sehr distinkt gefärbt, häufig der eine bedeutend stärker hervortretend als der andere. Reichlich auch kurze und längere Vollstäbchen, ferner kokkenähnliche, rundliche und diplokokkenähnliche Gebilde.

b) Ein zweiter Stamm vom Bacterium typhi Eberth (entstammt gleichfalls der Sammlung des Franz Joseph-Spitals mit der Signatur „Umberto"). Die Stäbchen zeigen deutlichen Pleomorphismus, sehr beträchtliche Längendifferenzen von 0,3—2 μ schwankend, die Polenden abgerundet, die Pole sehr deutlich hervortretend, distinkt gefärbt, ziemlich scharf abgegrenzt gegen die den überwiegenden Anteil des Gesamtkörpers einnehmende, fast farblose Innenzone. Einzelne Exemplare zeigen wieder einen blassen Timbre der Innenzone. An einzelnen Exemplaren Pole ungleichmäßig, einer beträchtlich intensiver gefärbt und umfänglicher als der andere. Einzelne Exemplare zeigen besonders plumpe, fast ein Drittel des Gesamtkörpers einnehmende Polzonen, welche in diesen Fällen mehr allmählich an Färbungsintensität gegen das Innere zu abnehmen[1]). Daneben Kurzformen mit schlitzförmigem Querspalt (diplokokkenähnliche Formen).

7. Bacterium paratyphi B. (Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitals). Schlanke, etwa 1—1,5 μ lange Stäbchen mit deutlicher Polfärbung und farblosem vakuolären Innenraum, hie und da einen bläulichen Timbre zeigend. Der Randsaum hat hier manchmal einseitig eine etwas stärkere Tingierung. Sehr reichlich Rundformen mit deutlicher Polfärbung, sowie diplokokkenähnliche Gebilde.

8. Bacterium typhi murium*). Stamm: „Bacterium septicaemiae murium Isatschenko-Grimm" (Pribram, Katalog S. 115). Die Stäbchen zeigen höchstgradigen Pleomorphismus. Die Länge schwankt zwischen 0,15 bis 0,5 bis 2,5 μ. Die Gestalt ist meist etwas plumper, die Pole sind distinkt gefärbt, gehen ziemlich unvermittelt in die fast farblose, mehr längliche und kantig begrenzte Innenzone über. Zahlreiche Kurzstäbchen, nahezu Rundformen mit schönen Polen, daneben einzelne, voll gefärbte, kokkenähnliche Rundformen. Auffällig sind einzelne, sehr lange, über 2,5 μ lange, etwa 0,4 μ dicke, demnach plump gestaltete Formen, die in toto blaßblau gefärbt erscheinen,

1) Gottschlich (Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg., Bd. 1) erhielt in Ausstrichpräparaten einer unzweifelhaften Kultur von Bacterium typhi nach Essigsäuredifferenzierung typische Polfärbung, so daß die Ähnlichkeit mit Pestbazillen ganz unverkennbar war. Ebenso sah R. Paltauf in Schnittpräparaten aus Typhusdarm die Typhusbazillen regelmäßig als deutlich vakuolisierte Polstäbchen (mündliche Mitteilung mit Demonstration von Präparaten).

jedoch nimmt auch in diesen Exemplaren die Färbungsintensität von den Polenden gegen das Zentrum zu beträchtlich ab, so daß die Polenden deutlich hervortreten. Einzelne Kurzstäbchen zeigen ungleichmäßige Färbung der Pole, ein Pol viel deutlicher gefärbt als der andere.

Ziemlich reichliche Vollstäbchen, meist um das Doppelte bis Dreifache die typischen Formen an Länge übertreffend, zeigen schlanke Gestalt, einzelne keulenförmige Endauftreibungen.

9. Bacterium paratyphi A (entstammt der Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitals). Die Präparate zeigen ähnliche Bilder wie die Präparate von Bacterium paratyphi B, nur überwiegen hier die Vollstäbchen und kokkenähnlichen Formen.

10. Bacterium dysenteriae Shiga-Kruse (Sammlung der Prosektur des Franz Josephspitales). a) Vorwiegend ziemlich plumpe, etwa 1 μ lange Stäbchen mit abgerundeten Enden und reichlich längere, schlankere Formen, beide ohne vakuoläre Innenzone. Daneben aber einzelne 2—3 μ lange, ziemlich schlanke Stäbchen mit zart tingierten Polen, die gefärbte polare Zone nimmt an Färbungsintensität gegen den Innenraum ziemlich rasch ab und läßt denselben als mehr minder umfängliche, unregelmäßig begrenzte, elliptische Zone frei.

b) Präparate aus anderen Kulturen zeigen überwiegend sehr plumpe, bis 3 μ lange Riesenformen mit sehr deutlich tingierten Polen. Die Mehrzahl dieser Formen zeigen bei starker Verminderung der Färbungsintensität eine immerhin deutliche Blaufärbung der Innenzone. Daneben imponieren aber einzelne kürzere, etwa 1,5 μ lange Exemplare als typische Polstäbchen mit umfänglichem, farblosem, vakuolärem Innenraum. Einzelne Formen zeigen den einen Pol sehr satt gefärbt und mehr minder scharf begrenzt, den anderen umfänglich plump, allmählich gegen das Zentrum an Färbungsintensität abnehmend. Die Polenden sind durchwegs abgerundet. Ferner finden sich einzelne Rundformen in Gestalt kokkenähnlicher, mit Vakuolen versehener Scheiben.

11. Bacterium dysenteriae Y (Sammlung Prof. Ghon in Prag). a) Stäbchen von einer durchschnittlichen Länge von 1,5 μ. Die Pole markant gefärbt, gegen die farblose Innenzone unregelmäßig abgegrenzt. Einzelne Exemplare weisen einen schmalen Querspalt auf, dabei zeigt sich die polare Zone mächtig ausgebildet und sehr intensiv gefärbt. Ferner sehr plumpe, an den Enden abgerundete Formen (Rundformen).

b) Relativ schlanke Formen mit sehr intensiver Polfärbung und unvermitteltem Übergang der Färbungsintensität gegen den ungefärbten, elliptisch geformten, vakuolären Innenraum. Einzelne Exemplare zeigen auch im Zentrum einen zarten, bläulichen Timbre. Daneben einzelne Rundformen mit schönen Polen, daneben kokkenähnliche, vollgefärbte Gebilde.

12. Bacterium dysenteriae Flexner (Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitals). 0,6—1,8 μ lange, ziemlich schlanke, stark tingierte Stäbchen. Einzelne Exemplare zeigen eine kurze, elliptisch begrenzte, farblose Innenzone, andere zeigen eine mehr rechteckig, aber nicht streng linear begrenzte, in einem ganz blaßblauen Timbre gefärbte Innenzone. Wieder fallen vereinzelte, abnorm große Formen mit ungleichmäßigen Polen auf, der eine Pol mehr körnchenförmig rundlich, der andere etwas länger, etwa ein Drittel des Gesamtstäbchens einnehmend.

13. Bacillus proteus vulgaris „Til".*) Ziemlich schlanke, kokkenähnliche Kurzformen, daneben einzelne, etwas längere Stäbchen. Keine Polfärbung (Vollstäbchen).

14. Bacillus proteus X_{19} (Weil-Felix).*) Schlanke Fadenformen, zum Teil geschwungen, daneben kürzere Stäbchen. Länge variiert von 1—3 μ bis zu 13 μ. Außerdem Stäbchen von kokkenähnlichem Typus. Die Stäbchen durchwegs zarte, in continuo gefärbte Gebilde. Keine Polfärbung.

15. Bacterium pneumoniae Friedländer (Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitals). 0,5—3 μ lange, gleichmäßig ziemlich blaß gefärbte, bisweilen leicht sichelförmig gekrümmte, in vereinzelten Exemplaren Andeutung von Polfärbung mit schwächer färbbarem Innenraum aufweisende Stäbchen. Vereinzelte, auch kokkenähnliche Formen.

16. Bacillus anthracis (Sammlung der Prosektur des Franz Joseph-Spitals). Präparat aus dem Gewebssafte von Hoden eines Versuchsmeerschweinchens. 0,3 μ lange, zarte Stäbchen, teils in Gliederketten, teils ungegliedert angeordnet. Keine Polfärbung. In Fuchsinpräparaten hie und da Vakuole angedeutet.

17. Bacterium acidi lactici.*) 2—12 μ lange, ziemlich plumpe, satt gefärbte Fäden ohne Polfärbung.

18. Bacillus subtilis.*) Gliederketten in oft abenteuerlich geschwungener und netzförmig verworrener Verfilzung. Hie und da endständige Sporen, Einzelindividuen bis 2 μ lang, ohne Polfärbung.

19. Bacillus Megatherium.*) Plumpe, 2—3 μ lange Stäbchen, oft in Kettengliederung. Einzelne längere Exemplare bis 3,5 μ. Im allgemeinen ziemlich blaß gefärbt, die Pole stärker hervortretend, jedoch nicht distinkt darstellbar.

* * *

Anhangweise sei ferner erwähnt, daß von sämtlichen untersuchten Bouillonkulturen bzw. dem Gewebesafte der Versuchstiere Präparate angefertigt wurden, die mittels Durchziehens durch die Flamme fixiert und danach gefärbt wurden. Es zeigten sich in keinem Falle irgendwie charakteristische Bilder. Die Stäbchen erschienen fast durchwegs als Vollstäbchen, der Pleomorphismus derselben war deutlich erkennbar. Als Stichproben seien mehrere Befunde ausführlicher angeführt.

Spenglersche Polstäbchen (4) (Fig. 8). Durchwegs plumpe, gleichmäßig tingierte Stäbchen in sehr beträchtlichen Längenunterschieden, 0,3—1,5 μ, reichlich plumpe, kokkenähnliche Rundformen, Poldarstellung nur in ganz vereinzelten Exemplaren. Im Vergleich mit dem Bilde nach Alkoholfixation ein sehr einförmiges.

Bacterium coli commune (5). Plumpe Formen mit beträchtlicher Längendifferenz, im allgemeinen 0,3—1 μ lang, einzelne 1,5 μ lang. Die Langformen weisen eine meist plumpe Gestalt auf. Die Formen sind im allgemeinen gleichmäßig, ziemlich intensiv gefärbt, einzelne Exemplare zeigen jedoch recht deutlich schwach gefärbte, länglich geformte Innenräume mit stärker hervortretender Polfärbung, aber allmählicher Abnahme der Färbungsintensität von den Polen gegen den vakuolären Innenraum. Daneben kokkenähnliche Rundformen.

Bacterium typhi Eberth (6). Durchwegs ziemlich plumpe, intensiv gefärbte Stäbchen mit beträchtlichen Längenunterschieden bis 3 μ lang, plumpe und zartere Formen, kokkenähnliche Ovoidformen. Hie und da schwächer gefärbter Innenraum angedeutet.

* * *

Aus dem Bisherigen ergibt sich, daß zahlreiche Stämme der Koligruppe sowie Vertreter der Typhus- und Paratyphusgruppe sowie die untersuchten Dysenteriestäbchen die für Pest charakteristischen Bilder in Ausstrichpräparaten, die von Bouillonkulturen oder von Gewebsabstrichen der Versuchstiere gewonnen und der Alkoholfixation unterzogen worden waren, aufs deutlichste zeigen.

Mehr minder ausgesprochen weisen auch Präparate von Bakterien aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie das Phänomen der Polfärbung und Vakuolenbildung auf, wozu auch der Stamm Bacterium septicaemiae haemorrhagicae Kan. gehört.

Bei dieser Gelegenheit sei aber ausdrücklich hervorgehoben, daß nicht alle Stämme einer untersuchten Art die Polfärbung in gleicher Klarheit zeigten, wie aus der Beschreibung der Präparate der beiden Typhusstämme 6a und 6b ersichtlich ist. Auch sonst zeigten einzelne Typhus- und Colistämme das Phänomen der Polfärbung in relativ wenigen Exemplaren. Niemals aber war es ganz zu vermissen.

Der Umstand, daß auch Bacterium megatherium deutliche Polfärbung zeigt, beweist, daß die Darstellbarkeit der Polfärbung nicht auf die Gruppe der nach Gram entfärbbaren Bakterien beschränkt ist, sondern daß auch Vertreter nach Gram färbbarer Stäbchen Poldarstellbarkeit aufweisen. Die Proteusstäbchen, Friedländer- und Anthraxbazillen sowie die Rotzbazillen zeigen keine Polfärbung.

In Ausstrichpräparaten von Agarkulturen ist die Polfärbung im allgemeinen nicht gut darstellbar, in vereinzelten Exemplaren das Phänomen ꞁe doch erkenntlich, im allgemeinen sind die Stäbchen beträchtlich kürzer und nähern sich vielfach dem Kokkentypus. Die Anordnung der Diploformen ist dabei recht häufig und deutet wohl auf Teilungsvorgänge hin.

Wenn wir also zusammenfassen, so zeigte sich, daß bei den verschiedensten Bakterienarten die Polfärbbarkeit nach vorheriger Alkoholfixation nur bei den Exemplaren deutlich darstellbar ist, die in flüssigen Nährböden gewachsen waren, also entweder Bouillonkulturen oder dem Blute bzw. der Exsudatflüssigkeit eines Versuchstieres entstammten. In alkoholfixierten Strichpräparaten von Agarkulturen ist die Polfärbung halbwegs deutlich nur in ganz vereinzelten Exemplaren sichtbar, in vielen Exemplaren fehlt sie vollkommen, vielfach ist sie kaum angedeutet und nur bei schärfster Beobachtung eben noch erkenntlich. Hitzefixation eignet sich nicht zur Darstellung der Polfärbbarkeit.

Die Darstellbarkeit der Polfärbung ist demnach, abgesehen von der Abhängigkeit vom Wachstum im flüssigen Nährboden, durch die Fixation bedingt. Es sind dies dieselben Bedingungen, die auch beim Pestbazillus und bei der Pastereulla-Gruppe erforderlich sind, um, wie aus der eingangs zitierten Literatur ersichtlich ist, die Pole und Vakuolen klar zur Darstellung zu bringen.

Es ergab sich sonach die naheliegende Vermutung, daß die Darstellbarkeit der Polfärbung ein Produkt der Alkoholfixation sei, bzw. die Frage, ob nicht der Alkohol gegenüber der Hitzefixation das schonendere Fixationsmittel sei, welches die morphologischen Verhältnisse der beschriebenen Stäbchen in einer dem natürlichen Vorkommen mehr entsprechenden Weise zur Darstellung bringt als erstere. Um diese Frage der Lösung näherzubringen, war es nötig, native Färbungen zu verwenden. Zunächst wurden Bakterienaufschwemmungen im hängenden Tropfen unter Zusatz von Neutralrot untersucht. Die Bilder waren nicht sehr charakteristisch, da die Färbung mit Neutralrot schlecht gelingt.

Von der Erwägung ausgehend, daß die Choleravibrionen nach Signorelli[1]) in Bouillon und Agar, welcher mit Dahlia, Erythrosin oder Safranin versetzt ist, farbstoffabsorbierend wachsen, versuchte ich diese Methode zum Zwecke nativer Färbung. Merkwürdigerweise beobachtete Signorelli das Phänomen der Farbstoffadsorption hauptsächlich makroskopisch, jedenfalls fehlen nähere Beschreibungen des mikroskopischen Verhaltens. Es wird nur gelegentlich erwähnt, daß sich die Vibrionen im hängenden Tropfen gefärbt erweisen. Ich kann auf Grund meiner Befunde dieses Züchtungsverfahren als eine wesentliche Bereicherung der nativen Färbungstechnik empfehlen. Die Polfärbung zeigt sich sowohl im hängenden Tropfen an lebhaft beweglichen Stäbchen, als auch in luftgetrockneten Ausstrichpräparaten aufs deutlichste. Außerdem sieht man in überraschender Klarheit im hängenden Tropfen mancherlei biologische Vorgänge im Bakterienleibe, wie Auftreten von kleinsten, stark lichtbrechenden Körnchen, die vom Bakterienleib förmlich ausgeschleudert werden (Plasmoptyse). Diese Körnchen sind häufig polständig angeordnet, haben aber mit der gleich zu beschreibenden Polfärbung als solcher nichts zu tun. Das früher beschriebene Phänomen der Polfärbbarkeit dokumentiert sich jedoch auch in den von Signorelli-Kulturen herstammenden Präparaten als deutliche Farbanreicherung, entsprechend den Polen in Form nach innen offener, sichelförmig begrenzter polarer Zonen. Im Innern zeigen sich große, ungefärbte, ovaläre Vakuolen.

Am besten eignet sich zu dieser Färbung das Safranin. Dahlia hemmt in entsprechender Konzentration das Bakterienwachstum, Erythrosin wieder färbt zu blaß.

Die nach Signorellis Vorschrift bereiteten Agarnährböden sind relativ wasserreich, indem sie auf 10 ccm Agar 2 ccm je 1 proz. wässeriger Dahlia-, Erythrosin- oder Safraninlösung enthalten.

Zu erwähnen ist, daß das Phänomen der Polfärbung nur bei Verwendung relativ frischer Nährböden gelingt, lange aufbewahrte und daher eingetrocknete Nährböden eignen sich, wie eigentlich von vornherein zu erwarten war, nicht zu diesem Zwecke.

Von einem ähnlichen Gedanken ausgehend, hat Zikes[2]) an Bierhefe, die er in mit verschiedenen Farbstoffen versetzten Bierwürzen züchtete, vitale Färbung studiert.

Die Präparate des Materials von Safranin-Agar-Nährböden zeigen schönere Bilder als die in Safranin-Bouillon gezüchteten Stäbchen. Auf Safranin gedeihen sämtliche untersuchten Stämme mit Ausnahme von Bacterium lactis, subtilis und megatherium sehr gut. Die Kolonien imponieren als saftige, dem Strich entsprechend üppig sich ausbreitende Bakterienrasen, die den Farbstoff deutlich aufnehmen. Als bemerkenswertes Ergebnis zeigte sich, daß unser Grippestäbchen sowie das Bacterium cholerae gallinarum Würzburg die Eigenfarbe des Nährbodens insofern ändert, als er entsprechend den Kolonien

1) Über die Züchtung der Choleravibrionen in gefärbten Nährböden. Zentralblatt f. Bakt. 1912, Bd. 66, S. 469.
2) Zentralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 31, S. 507.

einen deutlich fluoreszierenden, metallischen Schimmer aufweist. Es wäre unter Umständen möglich, diese Eigenschaft zur Differenzierung heranzuziehen. Hervorheben möchte ich noch, daß der Zusatz von Safranin zu Agar eine scheinbar wachstumshemmende Wirkung für verschiedene Kokkenarten bedingt.

Es folgt nun das Protokoll der Untersuchung der nativ gefärbten Ausstriche von auf Safranin-Agar nach Signorelli gezüchteten Bakterien. Zur Untersuchung gelangte jede Bakterienart im hängenden Tropfen sowie im luftgetrockeneten mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung angefertigten Ausstriche. Derartige Präparate lassen auch bei monatelanger Aufbewahrung die charakteristische Polfärbung erkennen.

Bacterium cholerae gallinarum Würzburg (1). Auffallender Pleomorphismus. Länge 0,5—2 μ. Viele Exemplare zeigen plumpe Gestalt, andere, insbesondere ovaläre Rundformen, typische Polfärbung. Einzelne diplokokkenartige Paare. Die Formen zeigen fast durchwegs blassen, vakuolären Innenraum, die Pole allenthalben mehr minder deutlich tingiert.

Bacterium cholerae gallinarum Ficker (2). Ausgesprochener Pleomorphismus. Länge variiert zwischen 1—3 μ, daneben ganz kurze Rundformen, die überwiegende Mehrzahl der Exemplare weist deutliche Polfärbung mit farbloser, rundlicher und länglicher, vakuolärer Innenzone auf. Mäßig zahlreiche, kokkenähnliche Formen.

Bacterium septicaemiae haemorrhagicae Kaninchen (3). Auffälligster Pleomorphismus. Gerade Stäbchen verschiedenster Länge bis 3 μ, geschwungene und gekrümmte Formen. Einzelne Riesenexemplare betragen bis 9 μ Länge. Die Stäbchen erscheinen überwiegend als Vollstäbchen, nur einzelne Exemplare, darunter kipfelförmige Formen mit deutlicher Polstruktur.

Spenglersche Polstäbchen (4) (Fig. 9). Stäbchen im allgemeinen kurz mit zartem, quergestelltem Innenspalt, daneben etwas längere Formen mit deutlich ausgesprochener Polfärbung, einzelne Pole sind mehr kernig gestaltet und gemahnen an Polkörperchen. Auch sehr kurze Rundformen zeigen deutliche, querspaltförmige, farblose Innenzone und sehr deutliche Polfärbung. Einzelne lange, 10—12 μ lange Fäden fallen aus dem übrigen Bilde heraus, sie zeigen meist Andeutung stärker gefärbter Polenden und Segmentierung des Bakterienkörpers. Es handelt sich wohl um Involutionsformen, die unter dem Einflusse des wachstumshemmenden Farbstoffzusatzes zustande kommen, ähnlich wie die Involutionsformen der Pestbazillen in stark kochsalzhaltigen Nährmedien. Die Polfärbung ist in diesem Falle eine ganz allgemeine Erscheinung.

Bacterium coli commune (5). Ausgesprochener Pleomorphismus, lange Formen bis 6 μ (Involutionsformen), daneben vorwiegend 1,5—2 μ lange Körper im allgemeinen deutlich blaßrosa gefärbt. Die Färbung nimmt aber an Intensität deutlich und distinkt gegen die Pole hin zu, insbesondere die Formen von etwa 1,5—2,0 μ Länge mit abgerundeten Polenden zeigen deutlichste Polfärbung. Außerdem zahlreiche, zarte Stäbchen und kokkenähnliche Formen.

Bacterium paratyphi A (9) und Bacterium paratyphi B (7) zeigen deutliche Polfärbung.

Bacterium dysenteriae Shiga-Kruse (10). Zahlreiche kurze, schlanke, rosa gefärbte Stäbchen, einzelne distinkt gefärbt, dann Kurzstäbchen mit charakteristischer Polfärbung und ausgesprochener typischer zentraler Vakuole. Einzelexemplare zeigen an einem Pole distinkt gefärbte Rundkörnchen, an den anderen zartere Färbungen. In einzelnen Exemplaren ist der Körper sehr blaß gefärbt und die Polkörperchen scharf und distinkt hervortretend, so daß sie bei nicht sorgfältiger Beobachtung als freiliegende Gebilde imponieren könnten. Auch hier wieder bezüglich Gestalt und Längenverhältnisse deutlicher Pleomorphismus.

Es zeigt also die vitale Färbung der auf Safranin-Agar nach Signorelli gezüchteten Kulturen, daß die Polfärbung der Bakterien den

natürlichen Bedingungen entsprechendere morphologische Verhältnisse zeigt. Die Flammenfixation führt offenbar infolge Röstung des Bakteriumprotoplasmas zu einer Schrumpfung der Bakterienleiber und täuscht dann bei der üblichen Färbung mit wässerig verdünnter alkoholischer Anilinfarblösung das Bild von Vollstäbchen vor. Die Alkoholbehandlung scheint hingegen die natürlichen Verhältnisse besser zu fixieren.

Die Annahme Hutyras, daß Bakterien, die das Phänomen der Polfärbung zeigen, aus einem gut färbbaren Plasma bestehen und dann Substanzen ins Innere aufnehmen, welche sich gegen Anilinfarbstoffe refraktär verhalten, scheint, im Sinne der vorliegenden Beobachtungen, manches für sich zu haben.

Die auffällig plumpe, aufgeblähte Gestalt vieler polfärbbarer Stäbchen aus Bouillonkulturen und Blut infizierter Tiere (Fig. 2, 3, 5, 6) gegenüber dem dürftigen, vielfach kokkenähnlichen Aussehen der Bakterien von festen Nährböden (Fig. 4) sowie der Umstand, daß die Bakterien, welche in flüssigen Nährböden oder aber auf Nährsubstraten gewachsen waren, die reichlich Flüssigkeit enthalten, wie tierisches Gewebe, Blut, Signorelli-Nährböden usw., die Pol- und Vakuolenstruktur auch bei Nativfärbung deutlich zeigten, während sich die Stäbchen, welche Kulturen von festen Nährböden entstammen, in überwiegender Zahl als Vollstäbchen oder Kokkobazillen präsentieren, spricht dafür, daß die Bakterien Flüssigkeit in ihr Inneres aufnehmen.

Zum Studium des Vorganges dieser Flüssigkeitsaufnahme wurden auf Anregung Hofrat Paltaufs folgende Versuche angestellt: Je eine Öse einer 24stündigen Agarkultur vom Spenglerschen Polstäbchen und von Bacterium coli wurde in etwa 2 ccm Bouillon aufgeschwemmt. Sofort nach Anfertigung dieser dichten Aufschwemmung wurden Objektträger-Ausstrichpräparate angelegt. Sodann gelangte die Aufschwemmung bei Zimmertemperatur oder auf Eis zur Aufbewahrung, um das Wachstum der Bakterien möglichst auszuschalten. Von dieser Aufschwemmung wurden weiter Präparate in Intervallen von je einer halben Stunde bis zum Zeitpunkte von zwei Stunden, ferner je ein Präparat vier Stunden (Fig. 10) und je ein Präparat 24 Stunden nach ihrer Herstellung angefertigt. Diese Präparate zeigten keine wesentliche Veränderung der morphologischen Beschaffenheit der Bakterien. Das Bild entsprach ungefähr dem der oben beschriebenen Agar-Kulturpräparate (Fig. 4).

Zu gleicher Zeit wurden im Parallelversuche Bouillonkulturen von beiden Stämmen angelegt, bei 37° C gezüchtet und aus diesen jungen Kulturen in den angegebenen Intervallen Objektträger-Ausstrichpräparate hergestellt. Die Untersuchung ergab in den Präparaten der ersten zwei Stunden keine Differenz zwischen den Bildern der Präparate von der bei Zimmertemperatur bzw. Eiskühlung aufbewahrten Aufschwemmung und denjenigen der Präparate von den jungen Bouillonkulturen. Aber bereits vier Stunden (Fig. 11) nach Überimpfung in Bouillon und

Wachstum bei 37° C zeigte sich deutlich das Phänomen der Polfärbung. Selbstverständlich war auch in den Parallelpräparaten aus 24stündiger Bouillonkultur die Polfärbung klar ausgeprägt.

Es ergibt sich somit, daß Präparate aus Kulturaufschwemmungen in Bouillon, die bei Zimmertemperatur oder in Eis aufbewahrt wurden, auch 48 Stunden nach Anfertigung der Aufschwemmung keine Polfärbung zeigen (Fig. 10), während Präparate junger, mit dieser Aufschwemmung gleichzeitig in Bouillon angelegter, bei 37° gehaltener Kulturen das Phänomen der Polfärbung in deutlichster Weise zeigen (Fig. 11).

Sucht man für den mechanischen Vorgang der zentralen Flüssigkeitsansammlung im Bakterienleibe eine befriedigende Erklärung, so muß man sich vor Augen halten, daß die Physiologie der Bakterienzelle, die selbst ein osmotisches System darstellt, von den Gesetzen der Osmose beherrscht wird, worauf Alfred Fischer in seinen Vorlesungen über Bakterien[1]) ausführlich hinweist. Fischer beschreibt als plasmolysierte Choleravibrionen und Typhusbazillen vakuolisierte Formen mit polarer Lagerung des Protoplasten (loc. cit. S. 24, Fig. 15). Die Bilder ähneln bis zu einem gewissen Grad den in vorliegender Mitteilung beschriebenen. Dennoch handelt es sich um zwei ganz verschiedene, einander entgegengesetzte Vorgänge, die schließlich zu ähnlichen Bildern Anlaß geben. Fischer untersucht die Bakterien von Agarkulturen im hängenden Tropfen einer hyperosmotischen Flüssigkeit (Cholerafibrionen in 1,25proz. Kochsalzlösung, Typhusbazillen in 2,5proz. Kochsalzlösung), wobei es zu einer Wasser entziehenden Wirkung der Kochsalzmoleküle der Untersuchungsflüssigkeit gegenüber dem Bakterieninnern kommt. Die Wasserentziehung führt zu einer Retraktion des Plasmas, zur Plasmolyse, die jedoch, wie Fischer ausdrücklich hervorhebt, fast augenblicklich eintritt.

Die in der vorliegenden Mitteilung zur Beobachtung gelangenden Vorgänge der in flüssigen Nährböden gezüchteten Kulturen — Bakterien von Agarkulturen zeigen, wie wir wissen, Polfärbung kaum angedeutet — spielen sich in einem beträchtlich salzärmeren Medium ab. Die Untersuchung der von Signorelli-Nährböden lebend im hängenden Tropfen untersuchten Bakterien geschah in einer 0,8proz. Kochsalzlösung, die Züchtung in Bouillon in einer 0,5proz. Kochsalz enthaltenden Nährflüssigkeit, also in Medien, die gewiß nicht als hyperosmotisch anzusehen sind. Das Phänomen der Polfärbung tritt überdies keineswegs fast augenblicklich, sondern im Gegenteil, wie bereits erwähnt, sehr allmählich auf und ist in jungen Bouillonkulturen, die zwei Stunden bei 37° gehalten worden waren, noch nicht nachweisbar. Damit steht in Übereinstimmung, daß Wachstumsversuche in **kochsalzfreier Bouillon** üppiges Wachstum der untersuchten Stämme (Bacterium coli bzw. Spenglersches Polstäbchen) mit **geradezu klassischer Polfärbung und Vakuolenbildung** zeigen, wodurch bewiesen ist, daß eine von der Salzkonzentration abhängige, wasserentziehende Wirkung des Nährmediums für

1) Verlag von Gustav Fischer, Jena 1903.

das Zustandekommen der Polfärbung mit Sicherheit auszuschließen ist. Die Tatsache, daß deutliche Polfärbung erst von der vierten Altersstunde an zu beobachten ist, also von einem Zeitpunkte an, in dem die Teilungs- und Wachstumsvorgänge sich bereits auf der Höhe befinden, was auch durch die beginnende deutliche Trübung der Bouillon angezeigt wird, spricht dafür, daß das Auftreten der Polfärbung mit den Wachstumsvorgängen der Bakterien in einem Zusammenhange steht und nicht das Produkt eines plasmaschädigenden Vorganges, der Plasmolyse, ist. Wenn man in Betracht zieht, daß eine einmalige Teilung der Bakterien 20 bis 25 Minuten Zeit in Anspruch nimmt, so ist der Schluß wohl berechtigt, daß nicht allein die Teilung, sondern auch das Wachsen der Bakterien mit der Flüssigkeitsaufnahme in Zusammenhang steht.

Daß tatsächlich der Lebensprozeß der Teilungs- und Wachstumsvorgänge mit der Wasseraufnahme ins Innere des Bakterienleibes und der dadurch veranlaßten Vakuolenbildung und polaren Plasmaanordnung im Zusammenhang stehen, beweist der folgende Versuch: Schrägagarkulturen von Bacterium coli bzw. Spenglerschen Polstäbchen werden in 10 ccm einer 0,4% formalinhaltigen Bouillon aufgeschwemmt und nach 24stündigem Aufenthalte bei 37° C untersucht. Der niedrige Formalinzusatz wurde gewählt, um einerseits eine Vermehrung der Bakterien während des Versuches zu verhindern, anderseits eine morphologische Veränderung durch Formalinhärtung hintanzuhalten. Die Strichpräparate aus dieser Bouillonaufschwemmung zeigten das Phänomen der Polfärbung ebensowenig wie die Ausstriche aus nicht formalinisierter Aufschwemmung, die bei Zimmertemperatur oder auf Eis aufbewahrt waren (siehe oben). Von den formalinisierten Bouillonkulturen wurden auf Agarplatten Strichkulturen angelegt. Die Striche zeigten nach weiterem 24stündigem Aufbewahren bei 37° C keinerlei Wachstum, so daß wohl mit Sicherheit anzunehmen ist, daß die Kulturen abgetötet waren, somit oben erwähnte Ausstriche von Aufschwemmungen abgetöteter Keime herrührten.

Es ist also keineswegs Wasserentziehung, welche die Polfärbung bedingt, sondern es scheint im Gegenteil, als ob das Bakterienplasma in dem der Teilung folgenden Zustande relativ gesättigt, im Zustande eines osmotischen Überdruckes, Wasser aus der umgebenden Flüssigkeit durch die Zellmembran hindurch aufnimmt.

Der Einteilung der Bakterien durch Fischer in eine Gruppe mit einer für gelöste Stoffe (Salze, Zucker usw.) permeablen (Repräsentant: Bacillus anthracis) und eine Gruppe mit einer für gelöste Stoffe impermeablen Membran (Repräsentant: Choleravibrio, Coligruppe) kann auf Grund der vorliegenden Untersuchung beigepflichtet werden, nur mit Betonung des Standpunktes, daß die impermeable Membran nicht nur die Bedingung für Wasserabgabe des Bakterienleibes bei osmotischem Überdrucke der Außenflüssigkeit darstellt, sondern auch die Bedingung für Wasseraufnahme bei osmotischem Überdruck des Bakterienplamas. Die in vorliegender Mit-

teilung beschriebene Polfärbung im alkoholfixierten Präparate des Kulturausstriches von flüssigen Nährböden hat mit Plasmolyse nichts zu tun, sondern ist der Effekt von Wasseraufnahme ins Innere des Bakterienleibes.

Somit scheint uns auch die Ansicht Gottschlichs, daß ausschließlich plasmolytische Vorgänge die Polfärbung verursachen, nicht gerechtfertigt.

Die Flüssigkeitsaufnahme ins Innere des Bakterienleibes entspricht nicht etwa einem plötzlichen Flüssigkeitseinbruche, sondern einem allmählichen Vorgang, der etwa einem physiologischen Zwecke, der Aufnahme von Flüssigkeit zu Ernährungszwecken, dienen könnte. Das Vorhandensein von reichlicher Nährflüssigkeit begünstigt bekanntlich die Teilungsvorgänge bzw. das Wachstum der Bakterien in besonderem Maße und die Bakterien scheinen gerade in diesem Stadium Nährflüssigkeit begierig aufzunehmen.

Wenn wir nach Zettnow[1]) und Feinsberg[2]) annehmen, daß der Zentralkörper des Bakterienleibes aus einer schwach färbbaren Gerüstsubstanz von wabigem Bau und einer den Farbstoff stark aufnehmenden chromatinähnlichen Substanz zusammengesetzt ist, welcher in den Maschen dieser Gerüstsubstanz liegt, so ist die Vorstellung naheliegend, daß die durch osmotische Wirkungen eindringende Flüssigkeit die färbbaren Bestantteile aus dem zentralen Maschenwerk verdrängt, sie polarwärts treibt und sich selbst zentral ansammelt. Die schlecht färbbare Gerüstsubstanz bleibt zurück und nimmt die gelegentlich zu beobachtende blaßblaue Tinktion an.

Die Polarfärbbarkeit scheint demnach als Ausdruck erhöhter Vitalität an die Teilungs- bzw. Wachstumsvorgänge der Bakterien gebunden zu sein.

Schlußsätze.

1. Die Polfärbung der Bakterien ist keine auf bestimmte Bakterienarten (Pestbazillen, Pasteurellagruppe) beschränkte Eigenschaft. Sie ist vielmehr eine ziemlich allgemein darstellbare morphologische Eigentümlichkeit der verschiedensten Stäbchenarten, der keine differentialdiagnostische Bedeutung zukommt.

2. Die übliche Hitzefixation mittels Durchziehens durch die Flamme schädigt bzw. zerstört die Polfärbbarkeit der Bakterienarten meist vollständig. Die Alkoholfixation hingegen konserviert sie.

3. Die Polfärbung nach Alkoholfixation ist aber kein Artefakt, sondern gibt Bilder, die den natürlichen morphologischen Verhältnissen entsprechen.

4. Native Färbungen an Stämmen, die auf Agarnährböden gewachsen sind, die mit wässeriger Safraninlösung gefärbt und relativ

1) Zeitschr. f. Hyg. 1897, Bd. 24; 1899, Bd. 30.
2) Zentralbl. f. Bakt. 1909, I. Abt., Bd. 27, S. 417.

flüssigkeitsreich sind, zeigen, daß die natürliche Gestalt der die Polfärbung gebenden Bakterienarten der pestbazillenähnliche Typus des Polstäbchens ist.

5. Vorbedingung des Gelingens einer das mikroskopische Bild beherrschenden, deutlich ausgeprägten Polfärbung ist das Wachstum der Bakterien in flüssigen Nährböden, wie es auch das strömende Blut oder die Exsudatflüssigkeit des Trägers darstellt oder das Wachstum auf reichlich Flüssigkeit enthaltenden festen Nährböden und in dem vom Gewebesafte durchtränkten menschlichen oder tierischen Gewebe. Auf festen Nährböden gezüchtete Stämme zeigen das Phänomen der Polfärbung vielfach nur angedeutet, fast durchwegs aber undeutlich, keineswegs aber allgemein, sondern nur auf einen Teil der Exemplare beschränkt.

6. Die Polfärbung scheint als Ausdruck erhöhter Vitalität an die Teilungs- bzw. Wachstumsvorgänge der Bakterien gebunden zu sein. Sie kommt durch Aufnahme von Flüssigkeit ins Innere des Bakterienleibes zustande und hat mit dem durch Wasserentziehung verursachten, als Plasmolyse beschriebenen Vorgange nichts gemein.

* * *

Für die sachliche Förderung der vorliegenden Arbeit bin ich den Herren Professor Dr. Oskar Stoerk und Hofrat Professor Dr. Richard Paltauf in Wien zu großem Danke verpflichtet.

Legende zur Tafel.

Die Figuren stellen die Gegenstände in 1000facher Vergrößerung dar. Für die mikroskopische Beobachtung zur Anfertigung der Bilder diente das homogene Immersionsobjektiv Brennweite 1/12, numerische Apertur 1,4 mit dem Kompensationsokular Nr. 8, als Lichtquelle wurde das direkte Tageslicht benutzt.

Fig. 1. Ausstrichpräparat aus 24stündiger Bouillonkultur vom Stamme B. cholerae gallinarum „Würzburg" (Alkoholfixation, Methylenblaufärbung).

„ 2. Ausstrichpräparat aus älterer Bouillonkultur des „Spengler'schen Polstäbchens (Alkoholfixation, Methylenblaufärbung).

„ 3. Ausstrichpräparat aus dem Herzblute eines mit „Polstäbchen" geimpften Meerschweinchens (Giemsafärbung).

„ 4. Ausstrichpräparat aus 24stündiger Agarkultur des „Spengler'schen Polstäbchens" (1/10 Öse verstrichen in 1 Tröpfchen physiologischer Kochsalzlösung, Alkoholfixation, Methylenblaufärbung).

„ 5. Ausstrichpräparat aus 24stündiger Bouillonkultur vom Stamm Bacterium coli commune „30" (Alkoholfixation, Methylenblaufärbung).

„ 6. Ausstrichpräparat aus dem Herzblute eines mit Stamm „Bacterium coli commune 30" geimpften Meerschweinchens (Giemsafärbung).

„ 7. Ausstrichpräparat aus 24stündiger Bouillonkultur vom Stamm Bacterium typhi Eberth (Alkoholfixation, Methylenblaufärbung).

„ 8. Ausstrichpräparat aus 24stündiger Bouillonkultur vom Spengler'schen „Polstäbchen" (Hitzefixation).

„ 9. Präparat des luftgetrockneten Ausstriches eines auf Safraninagar nach Signorelli gezüchteten Stammes vom „Spengler'schen Polstäbchen" (vitale Färbung, unfixiert).

„ 10. Ausstrichpräparat aus Aufschwemmung einer 4 Stunden bei Zimmertemperatur oder auf Eis gehaltenen Agarkultur (10 ccm Agarkultur in 2 ccm Bouillon) vom Stamme: „Spengler'sches Polstäbchen".

„ 11. Ausstrichpräparat aus Kulturbouillon desselben Stammes, gewachsen bei 37°, 4 Stunden nach Überimpfung.



Untersuchungen über die Natur der filtrierbaren Vira und die Resistenz des Hühnerpestvirus gegen zellschädigende Einflüsse (Gerbstoffe, Oligodynamie).

Von

Paul Schweizer.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Basel. Vorsteher: Professor R. Doerr.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 28. Februar 1921.)

Zur experimentellen Bearbeitung allgemeiner Probleme, welche die Natur und die Eigenschaften der sog. ultramikroskopischen Krankheitserreger oder, richtiger ausgedrückt, der mikroskopisch noch nicht erfaßten Infektionsstoffe betreffen, pflegt man fast ausschließlich das Virus der Hühnerpest zu verwenden, weil dasselbe eine ganze Reihe wertvoller versuchstechnischer Vorzüge in sich vereint, die gerade in dieser Gruppe der Kontagien zu den Seltenheiten gehören. Die Erregerelemente treten nicht nur in Zellen sondern überwiegend frei in den Körperflüssigkeiten (im Plasma resp. im Serum, im Perikardial- und Peritonealexsudat) auf und finden sich in diesen Substraten bei akutem Krankheitsverlauf konstant und meist auch in beträchtlichen Mengen; ihre Verteilung im Serum oder im infektiösen Exsudat muß den Charakter einer homogenen und sehr stabilen Suspension haben, da sich andernfalls die außerordentlich exakte Dosierbarkeit, wie sie z. B. in den Versuchen von Ruß oder von Doerr und R. Pick zutage tritt, kaum erklären ließe. Diese Dosierbarkeit, welche sehr feine Abstufungen des inokulierten Infektionsstoffes gestattet, hängt aber natürlich nicht nur vom injizierten Material sondern auch von der Empfänglichkeit des Versuchstieres ab; je allgemeiner und je hochgradiger die Empfänglichkeit ist, desto günstiger und eindeutiger gestalten sich die Bedingungen des Experimentes und werden schließlich optimal, wenn sich die Verhältnisse der bei mikroskopischen Krankheitserregern beobachteten „Einkeimdisposition" nähern. Es scheint nun keinem Zweifel zu unterliegen, daß die im Handel Mitteleuropas gangbaren Hühnerrassen für die künstliche Infektion durch intramuskuläre Einspritzung von Hühnerpestvirus in hohem Maße und ohne individuelle Ausnahmen dispo-

niert sind, vorausgesetzt, daß man von einem hochvirulenten Hühnerpeststamm ausgeht. Weder Doerr und R. Pick noch ich selbst konnten feststellen, daß einzelne Exemplare im Sinne einer angeborenen Resistenz völlig refraktär waren, oder daß im Reihenversuch mit fallenden Mengen eines virushaltigen Substrates das mit der größten Dosis infizierte Huhn gesund blieb und überlebte, während das mit der kleineren Quantität inokulierte an Hühnerpest erkrankte und einging. Bei gegenteiligen Angaben, denen man in der umfangreichen Literatur über Hühnerpest wohl nur ganz vereinzelt (z. B. bei Mrowka) begegnet, erscheint die Annahme einer angeborenen individuellen oder durch die Rasse bedingte Resistenz weit weniger plausibel als der Gedanke an eine vorausgegangene Verseuchung der nicht reagierenden Tiere. Es ist ja seit Ostertag und Wolffhügel bekannt und durch die neueren Erfahrungen von Erdmann bestätigt, daß die spontane Erkrankung nicht immer letal verläuft, sondern speziell bei jüngeren Hühnern in Genesung übergehen kann und daß in solchen Fällen eine absolute Immunität zurückbleibt, die auch der willkürlichen Infektion mit massiven Dosen virushaltigen Materials standhält.

In Gegenden, in welchen die Hühnerpest en- oder epizootisch herrscht, muß man diese Eventualität im Auge behalten; jedenfalls würde ein ungesetzmäßiges Verhalten der Hühner gegen die künstliche Infektion, auch wenn es nicht allzu frequent wäre, das Arbeiten mit diesem Virus sehr erschweren und die Deutung der Ergebnisse auch dann unsicher machen, wenn man die Zahl der gleichartigen Einzelversuche erheblich vermehrt. Das trifft aber — wie erwähnt — für die meisten Länder nicht zu; vielmehr ist die Infektiosität des Hühnerpestvirus auch in quantitativer Beziehung für das Huhn so konstant, als das prinzipielle Untersuchungen über Infektionsstoffe erheischen, für deren Nachweis als einziges Reagens eben nur die Infektiosität zu Gebote steht.

Es sind aber nicht nur versuchstechnische Motive, welche die Wahl des Hühnerpestvirus für die Entscheidung allgemeinerer Fragestellungen rechtfertigen. Mit gewissen selbstverständlichen Einschränkungen darf man diesen Infektionsstoff wohl für einen charakteristischen Repräsentanten der ganzen Gruppe der mikroskopisch nicht erfaßten oder vielleicht de facto nicht erfaßbaren Krankheitskeime erklären. Manche Eigenschaften wie z. B. die Widerstandsfähigkeit gegen Glyzerin, die Fähigkeit, in manchen Geweben die Entwicklung eigentümlicher Reaktionsprodukte zu veranlassen usw., teilt er mit andern Vira dieser Kategorie, und in einer Hinsicht ist er ihnen sogar überlegen: in bezug auf seine Filtrierbarkeit. Man legt allerdings gerade auf das letztgenannte Kriterium immer weniger Gewicht. v. Esmarch, Borrel, Rosenthal, Schmidt, Hofstädter, Marchoux, Bigelow, Doerr u. v. a. haben gezeigt, daß sich die verschiedenen Filtertypen nicht eignen, um die Größe von Mikroben auch nur mit approximativer Genauigkeit zu bestimmen und daß insbesondere die Filtrierbarkeit durch „bakteriendichtes" Filtermaterial keineswegs die Aussage gestattet, daß die passierenden Mikroben submikroskopische Dimensionen haben müssen. Zu diesem Schlusse, den übrigens schon Borrel im Jahre 1903 klar formuliert hat, gelangt auch neuerdings W. Frei, der die physikalische Chemie des Filtrationsprozesses auf Grund der be-

reits vorliegenden Forschungsresultate und gestützt auf theoretische Betrachtungen eingehend erörtert und nachweist, daß man es hier mit einem äußerst komplexen Vorgang zu tun hat, der von zahlreichen, sich in unberechenbarerweise kombinierenden Faktoren beeinflußt wird. Wie sehr man Täuschungen unterworfen ist, wenn man der Filtrierbarkeit von Infektionsstoffen zu große Bedeutung beimißt, kann man aus der jüngsten Peripetie der Lehre von der Gelbfieber-Ätiologie ersehen. Hier galt der submikroskopische Charakter des Erregers als gesichert, da sich die mit Berkefeld- oder dichten Chamberlandkerzen erzielten Filtrate als pathogen erwiesen (Francis und Beyer); nach den Arbeiten von Noguchi ist es aber sehr wahrscheinlich, daß das Gelbfieber durch die Leptospira icteroides hervorgerufen wird, die im gefärbten Präparat (Giemsa, Fontana) oder im Dunkelfeld ohne weiteres sichtbar ist. Die Leptospira icteroides ist 4 bis 9 μ lang, aber nur 0,2 μ breit und an ihren beiden Enden zu Spitzen von extremer Feinheit verjüngt, eine Gestalt, die ihr offenbar trotz der mikroskopischen Länge das Durchschlüpfen durch enge Filterporen, von dem sich auch Noguchi überzeugen konnte, erlaubt.

Wenn sich jedoch auch die Größenverhältnisse der Mikroben durch die Filtration nicht genau bestimmen lassen, so kann man doch mit Hilfe dieses Verfahrens grobe Unterschiede der Dimensionen sehr wohl ermitteln, speziell wenn man die Porenweite und damit die Permeabilität durch Anwendung der Bechholdschen Ultrafiltration noch weiter herabsetzt. Und da muß entschieden zugegeben werden, daß die Filtrabilität des Hühnerpestvirus, soweit bekannt, ein Maximum darstellt. Schon Rosenthal vermochte kein poröses Filter zu ermitteln, welche dieses Virus immer vollständig zurückhielt, obwohl begreiflicherweise eine Reduktion der Infektiosität (Keimverminderung) eintrat, die sich bei manchen Filtersorten bis auf 0,1 ‰ steigerte. Erst v. Provazek war imstande, Hühnerpestelemente von der Suspensionsflüssigkeit durch Filtration vollkommen abzusondern, als er zu diesem Zwecke 3% Agarfilter, also Ultrafilter aus Kolloidgelen, verwendete. Andriewsky ging auf diesem Wege noch einen Schritt weiter, indem er die Porosität der Ultrafilter abzustufen suchte. In Anlehnung an Bechholds Methodik tränkte er Filterpapier mit 3, 4, 5, 6, 7 und 8% Eisessigkollodium und preßte durch diese Kollodiummembranen Hühnerpestserum, welches 15- bis 20fach mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und mit einer 1proz. Lösung von Hämoglobin versetzt war. Es stellte sich heraus, daß die mit dem 3proz. Kollodiumfilter gewonnenen Filtrate (in der Menge von 5 cm^3 injiziert!) für Hühner virulent waren, obwohl sie kein Hämoglobin, sondern nur die Proteine des Hühnerserums enthielten. 4- und 5proz. Kollodiumfilter, welche schon den Hauptbestandteil der Serumproteine zurückhielten, gaben noch immer ein infektiöses Filtrat (geprüfte Dosis = 2 cm^3) und erst die 6- bis 8proz. Membranen, welche nicht einmal mehr den spurweisen Durchtritt von Serumglobulin und Serumalbumin gestatten, erwiesen sich für die Hühnerpestelemente als impermeabel. Andriewsky folgert hieraus, daß das „Kolloid des Hühnerpestvirus" aus Mizellen bestehen müsse, welche kleiner sind als die Moleküle des Hämoglobins, d. h. kleiner als 2,3 bis 2,5 μ. Dagegen kann indessen mancherlei geltend ge-

macht werden, vor allem der Umstand, daß die Reaktionen, mit denen die Existenz des Testkolloides einerseits, jene des Virus anderseits im Filtrate nachgewiesen wird, einen sehr verschiedenen Feinheitsgrad besitzen. Ein einziges Erregerelement, welches das Filter passiert, kann, selbst wenn es in mehreren cm^3 Filtrat allein vorkommt, durch den Infektionsversuch an dem so empfindlichen Huhn festgestellt werden, während die optischen Proben auf Hb und die chemischen auf Eiweiß bei fortschreitender Verdünnung ihrer Lösungen bald versagen. Eine vorübergehende Gelegenheit zum Durchtritt vereinzelter Erregerteilchen, die dann sistiert, erscheint aber durch den Beginn der Filtration (beim Ultrafilter durch das Einschalten des Druckes mehrerer Atmosphären) gegeben; später verlegen sich die spärlichen Poren von weiterem Kaliber durch Verschlammung mit den Kolloiden des Filtrans und die transitorische Phase initialer Durchlässigkeit genügt zwar für die Passage einer nachweisbaren Zahl von Hühnerpestkeimen, nicht aber für den Durchtritt einer qualitativ feststellbaren Menge von Hb- oder Eiweißmolekülen bzw. Molekülaggregaten. Aber so viel darf man doch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Hühnerpestkeime tatsächlich sehr geringe Ausmessungen besitzen, und daß sich daher bei ihnen jene Eigenschaften, die sich als rein physikalische Konsequenzen der minmalen Dimension und des Mißverhältnisses der Oberfläche zum Volumen und zum Gewicht ergeben müssen, in besonders ausgeprägter Form vorfinden werden.

So ist das Hühnerpestvirus stets das experimentelle Paradigma der „infravisiblen" und der „filtrierbaren" Krankheitserreger geblieben und wurde naturgemäß auch herangezogen, um Beweise für die Existenz unbelebter Infektionsstoffe zu erbringen. Diese Theorie war ja von vornherein auf ein Gebiet verwiesen, auf welchem sie nicht durch die direkte Beobachtung lebender Zellen als notwendiger Träger der Infektiosität widerlegt werden konnte; hier scheint sie aber Raum zu gewinnen und ist durch Versuche gestützt worden, welche eine glatte diskussionslose Ablehnung nicht mehr angezeigt erscheinen lassen. Es ist hier nicht der Ort, um diese Frage in ihrer Totalität aufzurollen und kritisch zu beleuchten; es mag genügen, wenn wir auf die Arbeiten über die infektiöse Anämie der Pferde (K. und R. Seyderhelm, van Es und Schalk, Klempin, Wirth u. a.), über die Mosaikkrankheit des Tabaks (Beijerinck, Iwanowsky, Hunger) und speziell auf die interessanten, den medizinischen Forschern viel zu wenig bekannten Untersuchungen über die infektiöse Panachierung der Malvaceen (Erwin Baur) verweisen. Eingehender sollen in dieser Mitteilung nur jene Publikationen besprochen werden, in welchen das Hühnerpestvirus als unbelebte Substanz hingestellt wird, vor allem eine Veröffentlichung von Mrowka. Mrowka hält das Virus der Hühnerpest für eine eigenartige Modifikation des Serumglobulins des Hühnerplasmas, welches gleich seiner Muttersubstanz aus dem Sol- in den Gel-Zustand übergeführt d. h. ausgeflockt werden kann; das virulente Globulingel ist reversibel und in Anbetracht seiner unbegrenzten Übertragbarkeit von Huhn zu Huhn vermehrungsfähig, was wohl so verstanden werden soll, daß das virulente Globulin die Kraft besitzt, die Globuline gesunder Hühner in die pathogene Variante umzusetzen. Die experimentellen

Tatsachen, auf welche Mrowka diese Auffassung basiert, laufen hauptsächlich auf das Grundphänomen hinaus, daß das Virus mit den Globulinen der eiweißhaltigen infektiösen Körperflüssigkeiten sehr enge, fast untrennbar verkettet erschien, daß es durch Tannin, Ammonsulfat, Dialyse gleichzeitig mit den Globulinen gefällt wurde, in den Niederschlägen durch den Tierversuch nachweisbar blieb und aus ihnen durch Auswaschen nicht wieder in Freiheit gesetzt werden konnte. Zu gleichen Ergebnissen gelangte Sangiorgi bei analogen Experimenten mit dem Virus der von de Gasperi und Sangiorgi beschriebenen Meerschweinchenpest; er fällte die virulenten Blutsera infizierter Meerschweinchen mit kolloidalem Eisenhydrat oder durch CO_2, fand die überstehenden Flüssigkeiten apathogen, die abzentrifugierten Niederschläge hochinfektiös und vermochte ebensowenig wie Mrowka den Infektionsstoff durch Waschprozeduren vom Eiweißpräzipitat zu isolieren. In der Erklärung der Beobachtung weicht jedoch Sangiorgi von Mrowka ab und hält die mechanische Adhäsion des Virus an die Eiweißsubstanz für wahrscheinlicher als die Annahme einer kolloidal gelösten, nicht organisierten Virusform. Die Hühnerpestversuche nahm dann S. Miyaji unter Leitung von Provazek wieder auf, bestätigte die restlose Ausflockbarkeit dieses Virus mit Tannin, war dagegen nicht imstande, infektiöse Hühnerserumverdünnungen dadurch avirulent zu machen, daß er sie nach Rossi enteiweißte (wiederholtes Einfrieren und Zentrifugieren in gefrorenem Zustande) oder in ihnen durch Zusatz eines Antihühnerkaninchenserums eine spezifische Immunpräzipitation hervorrief. In parenthesi bemerkt, war die letzterwähnte Versuchsanordnung nicht gerade als rationell zu bezeichnen. Bekanntlich bestehen die Präzipitate, welche sich beim Vermengen von Präzipitinogen und zugehörigem Präzipitin bilden, nicht oder nur zum allergeringsten Teile aus dem Eiweiß der Antigenlösung, sondern der Hauptsache nach aus den Globulinen des Immunserums. (E. P. Pick, Moll, Welsh und Chapman, Calmette und Massol, Doerr und Moldovan, P. Hirsch und K. Langenstraß). Nach dem Schema von Miyaji geht daher vorwiegend Kanincheneiweiß in den Niederschlag ein, so daß die Viruselemente des Hühnerserums höchstens passiv mitgerissen werden können. Denkt man aber an irgendeinen besonderen Konnex der Virusteilchen mit dem Hühnerglobulin, so müßte man trachten, gerade dieses auszuflocken und in folgender Art vorgehen: man würde zunächst Hühner mit Kaninchenserum immunisieren, bis in ihrem Serum Präzipitine festgestellt werden können; dann wären diese Hühner zu infizieren und die infektiösen Sera derselben durch Antigenzusatz (d. h. durch verdünntes Kaninchenserum) zu fällen. Diese Methode dürfte in mehrfacher Beziehung Aufschlüsse bringen; über ihre Ergebnisse soll demnächst berichtet werden.

Vorerst schien es angezeigt, die Bedingungen einer optimalen Fällung von verdünnten Serumlösungen durch Tannin festzustellen. Aus älteren und neueren Angaben (vgl. u. a. auch T. Sollmann) war der maßgebende Einfluß der H-Ionenkonzentration und — falls dieser Faktor als annähernd konstant betrachtet werden durfte — die dominierende Wirkung des gegenseitigen Mengen- resp. Konzentrationsverhältnisses der beiden Reaktionskomponenten (Tannin und Serumeiweiß) zu entnehmen. Ein

relativer Überschuß von Tannin oder von Serum hemmt die Flockung oder verhindert sie völlig; bereits entstandene Präzipitate lösen sich in nachträglich zugesetzten größeren Serummengen wieder auf.

1. Versuch.

Zu steigenden Mengen Ziegenserum wurden steigende Mengen Tannin zugesetzt. Das Reaktionsvolumen betrug in jeder Eprouvette 3 cm³. Als Verdünnungsflüssigkeit diente 0,85 proz. NaCl-Lösung.

T = Trübung, Sp.T. = Spur Trübung, *** = Niederschlag ohne Klärung, **** = Niederschlag mit völliger Klärung der überstehenden Flüssigkeit.

Menge des Ziegenserums cm³	Menge des Tannins g	Resultat
0,02	0,0005	****
0,02	0,001	****
0,02	0,002	****
0,02	0,003	****
0,02	0,004	****
0,02	0,005	****
0,02	0,01	****
0,02	0,05	****
0,02	0,1	****
0,1	0,0005	T
0,1	0,001	T
0,1	0,002	***
0,1	0,003	****
0,2	0,0005	—
0,2	0,001	—
0,2	0,002	Sp.T.
0,2	0,003	T
0,2	0,004	***
0,2	0,005	****
0,4	0,003	T
0,4	0,004	***
0,4	0,005	***
0,4	0,006	***
0,4	0,008	***
0,4	0,01	***
0,4	0,05	****
0,4	0,1	****

Mit 0,02 cm³ Ziegenserum (3 cm³ Reaktionsvolum) geben also alle Werte von 0,0005 bis 0,1 g Tannin eine massige Fällung mit völliger Klärung der überstehenden Flüssigkeit, mit 0,1 cm³ erst Mengen von 0,003 g aufwärts, mit 0,2 cm³ solche von 0,005 g und mit 0,4 cm³ erst 0,05 g Tannin oder mehr.

Es ist nun klar, daß die Masse des Niederschlages in erster Linie bestimmen wird, in welchem Umfange die in einer Serumeiweißlösung suspendierten Mikroben bei der Ausflockung vom Eiweißkoagel umhüllt und zu Boden gerissen werden. Das läßt sich leicht demonstrieren, wenn man eine Suspension bekannter Bakterien in verdünntem Serum durch steigende Tanninkonzentrationen ausfällt und die Zahl der Bakterien vor Zusatz des Tannins und nach eingetretener Flockung und Abzentrifugieren des Koagels ermittelt.

2. Versuch.

Jedes Röhrchen enthielt 10 cm³ 10fach verdünntes Ziegenserum, ein gewisses Quantum Tanninlösung und so viel 0,85 proz. NaCl, daß das Reaktionsvolumen 14 cm³ betrug. Eine Kontrolle bestand nur aus 10 cm³ $^1/_{10}$ Ziegenserum und 4 cm³ 0,85 proz. NaCl-Lösung. Vor dem Tanninzusatze kam in jedes Röhrchen 0,1 cm³ einer Emulsion von Kolibazillen (hergestellt aus 16stündiger Schrägagarkultur). Nach Eintritt der Fällung und Zentrifugierung wurde mit je 0,5 cm³ der überstehenden Flüssigkeiten und 0,5 cm³ der Kontrolle eine Agarplatte gegossen und die Zahl der Kolonien nach 24stündiger Bebrütung festgestellt.

Menge des Tannins	Zahl der Kolonien im cm³	Menge des Tannins	Zahl der Kolonien im cm³
0,000 (Kontrolle)	270000	0,05 g	13000
0,01 g	130000	0,075 g	700
0,02 g	33000	0,1 g	450
0,025 g	20000	0,2 g	300

Unter den gewählten Versuchsbedingungen war daher die Keimreduktion nach der Flockung mit 0,1 bis 0,2 g Tannin maximal, etwa 430 mal größer als nach Zusatz einer 10 bis 20 mal geringeren Tanninmenge; von dem ursprünglichen Keimgehalt der Aufschwemmung blieben nur 0,11% in der überstehenden Flüssigkeit, der Rest war im Niederschlag vorhanden, und zwar in lebendem und vermehrungsfähigem Zustande. Wurde nämlich das Präzipitat aufgewirbelt und möglichst gleichmäßig im Reaktionsvolumen verteilt, so lieferte die Aussaat von Proben Keimzahlen, welche jenen der Kontrolle mindestens gleich kamen; in der Regel waren sie jedoch bedeutend höher (siehe Versuch 3), was auf doppelte Weise zu erklären war. Zunächst dadurch, daß die zur Aussaat bestimmten Quantitäten der gefällten und wiederaufgewirbelten Suspensionen mit der Pipette aufgesaugt und in den flüssigen Nährboden übertragen wurden, wobei die stark bakterienhaltigen feinen Eiweißflocken entweder leichter in die Pipette einströmten als die Flüssigkeit oder in der Pipette rasch nach abwärts sanken, so daß der Bakteriengehalt der ausgesäten Mengen nicht dem der frisch aufgewirbelten Suspensionen entsprach. Zweitens kam die Bakterizidie der verwendeten meist nicht inaktivierten Sera in Betracht, die sich nur in der Kontrolle geltend machen konnte, nicht aber in den mit Tannin versetzten Röhrchen, da die bakteriziden Stoffe unmittelbar nach dem Zusatz von Bakterien durch die starke Eiweißflockung unwirksam gemacht werden müßten. Wurde neben einer Bakteriensuspension in Serum eine Aufschwemmung in reiner Kochsalzlösung als zweite Kontrolle angesetzt, so ergaben sich für letztere bisweilen Keimzahlen, welche mit jenen der ausgefällten und wiederaufgewirbelten Suspensionen gut harmonierten (siehe Versuch 7). Doch konnte die Bakterizidie der Normalsera nicht überall beschuldigt werden, da viele Serumproben zwar nicht durch Hitze inaktiviert, wohl aber lange abgelagert und alexinfrei waren.

Eine vollständige Entkeimung der überstehenden Flüssigkeiten fand im zweiten Versuch nicht statt. Da hierin ein sichtlicher Widerspruch zu den Angaben von Mrowka und Miyaji und unseren eigenen, später mitzuteilenden Erfahrungen lag, denen zufolge Hühnerpestvirus aus virulentem Serum durch Tanninfällung komplett ausgeflockt werden kann, war die Vermutung gerechtfertigt, daß vielleicht Größe, Gestalt und Begeißelung der Mikroben oder die Viskosität ihrer Oberflächen Einfluß haben dürften. Es wurde daher der zweite Versuch mit B. coli (begeißelt), mit Staphylokokken, unversporten Anthraxbazillen und Bazillus Friedländer (schleimige Hülle) nochmals angesetzt.

3. Versuch.

Jede Eprouvette enthielt 10 cm³ 10fach verdünnten Ziegenserums, 0,05 g Tannin (1 cm³ einer 5proz. Lösung) und je 0,1 cm³ einer Bakteriensuspension (hergestellt aus 16stündiger Schrägagarkultur). — Kontrollen mit 1 cm³ 0,85proz. NaCl-Lösung an Stelle der Tanninsolution.

Zugesetzte Bakterienart	Bakterienzahl im cm³ der Kontrolle	der übersteh. Flüssigkeit nach d. Tanninflockung	nach dem Aufwirbeln des Präzipitates	Keimreduktion durch die Tanninflockung in % der Kontrolle
B. Friedländer	600000	300	1800000	0,05
B. anthracis	100000	100	125000	0,1
Staphylokokken	500000	1500	4400000	0,3
B. coli	300000	1000	1500000	0,33

Die Differenzen waren somit — bei Organismen von mikroskopischer Größenordnung — nicht sehr erheblich und erwiesen sich überdies bei Änderungen der Flockungsverhältnisse nicht als konstant. So wurden bei einer analogen Versuchsanordnung mit 0,02 g Tannin nur die Anthraxbazillen relativ stark ausgeflockt (bis auf 0,2%) während sich die Zahlen der Friedländerstäbchen nur auf 15%, jene der Staphylokokken auf 6% und jene der Kolibakterien auf 9% reduzieren ließen. Vor allem aber kam es nicht zu einer effektiven Sterilisation der überstehenden Flüssigkeiten durch Erzeugung starker Niederschläge, man mochte nun dieses oder jenes Bakterium verwenden.

Eine größere und unter verschiedenen Fällungsbedingungen zutage tretende Rolle spielt die Art des Serums, in welchem die Mikroben suspendiert werden. In Pferde- oder Ziegenserum z. B. ist die Entkeimung bei der Flockung mit niederen Tanninkonzentrationen weit vollständiger als im Kaninchen- oder Meerschweinchenserum und da die beiden letzgenannten Serumarten auch eiweißärmer sind, daher auch weniger mächtige Niederschläge liefern, so dürfte darin eine Ursache der beobachteten Unterschiede liegen. Es scheint aber noch ein zweiter Faktor zu intervenieren, da sich mit steigender Tanninmenge die Differenzen zwischen Meerschweinchen- und Pferdeserum ausgleichen, während die Entkeimung im Kaninchenserum dauernd unvollständig bleibt; möglicherweise kommt die verschiedene Klebrigkeit der entstehenden Präzipitate in Betracht. Hühnerserum entspricht in seinem Verhalten jedenfalls mehr dem Pferde- als dem Kaninchenserum, was im Hinblick auf die Ergebnisse von Mrowka nicht irrelevant ist.

4. Versuch.

Jedes Röhrchen enthielt 10 cm³ einer 10fachen Serumverdünnung (Kaninchen-, Meerschweinchen-, Ziegen- oder Pferdeserum), 1 cm³ einer Tanninlösung (2,5; 5; 10 oder 20%) und 0,1 cm³ einer dichten Koliaufschwemmung (aus 16stündiger Schrägagarkultur). — Kontrollen mit 1 cm³ Kochsalzlösung. Nach dem Zusatze der Bakterien und des Tannins kamen die Röhrchen für 3 Stunden in den Eisschrank, wurden dann zentrifugiert, und von den überstehenden Flüssigkeiten je 0,1 und 0,5 cm³ zu Agarzählplatten verarbeitet.

Art des Serums	Menge des Tannins	Kolonienzahl in der überstehenden Flüssigkeit
Meerschweinchen	0,025	4500
Kaninchen	0,025	8000
Pferd	0,025	1800
Meerschweinchen	0,05	800
Kaninchen	0,05	1500
Pferd	0,05	700
Meerschweinchen	0,1	350
Kaninchen	0,1	2000
Pferd	0,1	400
Meerschweinchen	0,2	700
Kaninchen	0,2	5000
Pferd	0,2	300
Ziege	0,2	300
Kaninchen	0 } Kontrollen	520000
Pferd	0 } Kontrollen	525000

Die evidente Überlegenheit des Pferdeserums in diesen vergleichenden Reihen veranlaßte erneute Versuche in der Richtung, ob nicht bei Verwendung dieser Serumart die Bakterienausflockung verbessert d. h. vollständiger gestaltet werden kann. Auch hatte sich inzwischen herausgestellt, daß gewisse Vorsichtsmaßregeln das Endresultat beeinflussen, so vor allem das ruhige Stehen der Röhrchen während des Flockungsablaufes und die Einschaltung eines längeren (5 bis 6stündigen) Intervalles zwischen Flockung und Abzentrifugieren der Niederschläge.

5. Versuch.

Jedes Röhrchen enthielt 10 cm^3 10fach verdünnten Pferdeserums, 0,1 cm^3 einer Bakteriensuspension und 1 cm^3 einer 10proz. Tanninlösung. — Kontrollen mit 0,1 cm^3 Bakteriensuspension in 10 cm^3 $^1/_{10}$ Pferdeserum und 1 cm^3 NaCl. — Die Bestimmungen der Keimzahlen erfolgte durch Gießen von Agarzählplatten mit je 0,1 cm^3 Flüssigkeit aus den Kontrollröhrchen (K.), aus den nach Tanninflockung und Abzentrifugieren der Niederschläge resultierenden klaren überstehenden Flüssigkeiten (F.), und den trüben, durch Wiederaufwirbeln der abzentrifugierten Niederschläge erhaltenen Gemischen (P.). Das Intervall zwischen Flockung und Abzentrifugieren der Flocken belief sich auf 5 Stunden, während welcher Zeit die Röhrchen im Kühlschrank aufbewahrt wurden.

Bakterienspezies	Art der Probe	Keimzahl im cm^3
B. Friedländer	K.	1100000
	F.	40
	P.	1300000
Staphylokokken	K.	1320000
	F.	10
	P.	1950000
B. megatherium	K.	150000
	F.	50
	P.	170000

Diesmal wurden also Reduktionen auf 0,03 ja auf 0,0007% erzielt, was immerhin eine wesentliche Annäherung an die Ergebnisse bei der Ausflockung des Hühnerpestvirus mit den Proteinen seiner Suspensionsflüssigkeiten bedeutet. Steril wurden aber die überstehenden Flüssigkeiten nicht; nehmen wir, was sehr wahrscheinlich ist, an, daß das Huhn für das Virus eine Art „Einkeimdisposition" besitzt, so ist der früher betonte Gegensatz nicht völlig behoben, speziell wenn wir noch berücksichtigen, daß so vollständige Entkeimungen, falls es sich um Bakterien handelt, nur ausnahmsweise zu beobachten sind, während sie beim infektiösen Hühnerserum anscheinend regelmäßig und ohne besondere Kunstgriffe zustande kommen.

Die Immunpräzipitation alteriert den Keimgehalt einer Bakteriensuspension, in welcher sie abläuft, nur unbedeutend, auch wenn man dafür Sorge trägt, daß die quantitative Relation zwischen Präzipitinogen und Präzipitin sowie die Wirkungsstärke des letzteren so bemessen wird, daß möglichst voluminöse Präzipitate entstehen. Die Ursachen sind einmal darin zu suchen, daß die Masse der Niederschläge doch noch immer weit hinter einer optimalen Tanninfällung zurückbleibt, anderseits auch auf die geringe Reaktionsgeschwindigkeit zu beziehen, mit der sich die durch Antigen-Antikörper-Reaktionen ausgelösten Eiweißflockungen vollziehen. Diese Tatsachen geben eine wenigstens partielle Erklärung, warum Miyaji nicht imstande war, infektiöses Hühnerserum durch Zusatz von Anti-

hühnerkaninchenserum in eine avirulente überstehende Flüssigkeit und einen virulenten Niederschlag zu scheiden.

6. Versuch.

In zwei Zentrifugengläser kommen je 10 cm^3 1000fach verdünntes Menschenserum und je 0,1 cm^3 einer dichten Emulsion von Kolibazillen. Röhrchen I erhält einen Zusatz von 2 cm^3 inaktivierten Normalkaninchenserums, II einen Zusatz von 2 cm^3 eines längere Zeit abgelagerten, sehr hochwertigen Menschenpräzipitins vom Kaninchen. In II trat schon nach 2 Min. (bei 10° C) eine Trübung auf, die sich innerhalb einer halben Stunde zu Flocken verdichtete und nach 1 Stunde war die Sedimentierung in vollem Gange. Nach 3 Stunden wurden beide Röhrchen zentrifugiert und mit je 0,1 cm^3 der überstehenden Flüssigkeiten resp. der oberen Partie des Gemisches Agarzählplatten gegossen. I enthielt im cm^3 580000, II noch immer 480000 Kolikeime; der Keimgehalt war somit durch die Flockung nur auf 83% herabgesetzt worden.

Dagegen verhalten sich die Bakterien bei einer Aussalzung der Globuline durch $^1/_3$ Sättigung mit Ammonsulfat ganz ähnlich wie bei der Tanninfällung. Auch die Globulinflockung durch Abdialysieren der Salze hat unter Beachtung bestimmter Kautelen eine 1000fache Keimreduktion in der überstehenden Flüssigkeit zur Folge, obwohl natürlich die in den Niederschlag übergehenden Eiweißfraktionen bei den drei genannten Prozessen wesentlich voneinander verschieden sind. Daß nicht etwa nur ausflockende Globuline Bakterien mitreißen, läßt sich zeigen, wenn man die Globuline[1]) aus Pferdeserum durch Dialyse und Abzentrifugieren entfernt, im globulinfreien[1]) Pferdeserum Bakterien aufschwemmt und die Albumine durch Tannin ausfällt.

7. Versuch.

In ein Zentrifugenglas werden 10 cm^3 konzentriertes Pferdeserum und 0,1 cm^3 Kolisuspension eingefüllt, sodann 5 cm^3 konzentrierte Ammonsulfatlösung zugesetzt. Nach eingetretener Flockung wird zentrifugiert. Anlegen von Agarzählplatten mit 0,1 cm^3 der überstehenden Flüssigkeit. Sodann wird der Bodensatz möglichst homogen im Reaktionsgemisch verteilt und mit 0,1 cm^3 der stark trüben Flüssigkeit neuerlich eine Agarzählplatte angelegt, (A). — Als Kontrollen dienten: 10 cm^3 Pferdeserum und 0,1 cm^3 Koliaufschwemmung + 5 cm^3 0,85% NaCl (B), und 15 cm^3 NaCl + 0,1 cm^3 Kolisuspension (C).

Probe	Kolonienzahl im cm^3
A) Überstehende Flüssigkeit	340
A) Aufgewirbelter Bodensatz	670000
B)	200000
C)	800000

8. Versuch.

In eine Fischblase wird ein Gemenge von 3 cm^3 Pferdeserum, 12 cm^3 destillierten Wassers und 0,1 cm^3 einer Kolisuspension eingefüllt und so lange gegen mehrmals gewechseltes destilliertes Wasser dialysiert, bis die angesäuerte Außenflüssigkeit mit $AgNO_3$ keine Spur von Trübung gibt. Nun wird vorsichtig von der über dem ausgefällten Globulin stehenden Flüssigkeit mit einer Pipette eine Probe entnommen und zur Zählplatte verarbeitet, welche einen Gehalt von 35000 Keimen pro cm^3 feststellen läßt. Hierauf wird der gesamte Inhalt der Fischblase in ein Zentrifugengefäß überpipettiert, das Globulin aufgewirbelt und möglichst homogen verteilt und sofort eine weitere Zählplatte angelegt; die Zählung ergibt 1500000 Kolonien.

1) Gemeint sind die in Wasser unlöslichen Globuline.

Dann wird bis zur völligen Klarheit zentrifugiert und der Keimgehalt der überstehenden Flüssigkeit bestimmt; er beläuft sich nunmehr auf 1500 Keime.

Das Präzipitat, nach Abhebern der überstehenden Flüssigkeit mit destilliertem Wasser mehrmals gewaschen, in 14,4 cm³ NaCl-Lösung aufgelöst (das Präzipitatvolum war mit 0,6 cm³ bestimmt worden), hatte auf das Volum des ursprünglichen Reaktionsvolums berechnet, 1180000 Kolibazillen im cm³.

Aus einer vor der Dialyse angestellten Kontrollzählung ging hervor, daß das Gemisch einen Ausgangsgehalt von 1800000 Keimen pro cm³ besessen hatte, so daß die Übereinstimmung aller gefundenen Werte wohl als recht zufriedenstellend bezeichnet werden darf.

Übersichtlich geordnet lauten die Daten:

Keimgehalt vor der Dialyse	1800000
Keimgehalt der überstehenden Flüssigkeit unmittelbar nach der Dialyse, ohne Zentrifugierung	35000
Keimgehalt nach Verteilung des Globulinsedimentes durch Aufwirbeln	1500000
Keimgehalt der durch Zentrifugieren erhaltenen überstehenden Flüssigkeit	1500
Keimgehalt des Präzipitates (auszentrifugierten und in NaCl-Lösung aufgelösten Globulinsedimentes)	1180000

9. Versuch.

$^1/_{10}$ Pferdeserum wird in einer Fischblase gegen destilliertes Wasser dialysiert, bis in der Außenflüssigkeit keine Chlor-Ionen nachweisbar sind. Das ausgefällte Globulin wird abzentrifugiert, das vom Globulin befreite Pferdeserum (10 cm³) mit 0,1 cm³ Kolisuspension und mit 1 cm³ 10proz. Tanninlösung versetzt. Abzentrifugieren nach 3 Stunden. — Zählplatten: aus einer Kontrolle ($^1/_{10}$ dialysiertes Pferdeserum ohne Tannin), aus der überstehenden Flüssigkeit, und dem Gemisch nach Aufwirbeln des Niederschlages.

Kontrolle	500000
Überstehende Flüssigkeit	5000
Aufgewirbeltes Präzipitat	2900000

Hinsichtlich des 8. Versuches sei auf den Unterschied im Keimgehalt aufmerksam gemacht, welchen das Zentrifugieren nach der Ausflockung der Globuline herbeiführt; offenbar halten sich feine, bakterienhaltige Globulinflocken wegen ihrer geringen Dimensionen schwebend und gehen erst unter der Einwirkung der Zentrifugalkraft rasch zu Boden. Mrowka hat das durch Dialyse von den wasserunlöslichen Globulinen befreite Hühnerserum stets erst zentrifugiert, bevor er die überstehende Flüssigkeit auf ihre Infektiosität prüfte; anderenfalls wären wohl abweichende Ergebnisse erhalten worden.

* * *

Nach diesen Vorarbeiten wurden die eigentlichen Experimente mit Hühnerpest in Angriff genommen. Das Institut verfügte über zwei Virusstämme, die von Prof. Kleine (Berlin) und Prof. Ascoli (Mailand) in bereitwilligster Weise zur Disposition gestellt worden waren, wofür wir beiden Herren auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen möchten. Das Berliner Virus erwies sich insofern als minder geeignet, als die Sera der infizierten Hühner oft schon in 100facher Verdünnung (in Mengen von 0,001 cm³) nicht mehr infizierten und auch in sehr großen Dosen nicht den gewohnten akuten Krankheitsverlauf zur Folge hatten, sondern erst

nach 2 bis 3 Tagen tötlich wirkten. Reihenversuche mit fallenden Mengen virulenten Serums ergaben ganz auffallende Unregelmäßigkeiten, wie aus folgendem Beispiel ersichtlich ist:

10. Versuch.

Huhn Nr. 32 wird am 12. I. 1921 mit virulentem Hühnergehirn intramuskulär injiziert; es erkrankt erst am 14. I., und sein im schwerkranken Zustande abgenommenes Serum wirkt wie folgt:

Huhn	Nr. 35	erhält	0,2 cm³	verendet	nach	60	Stunden
»	» 19	»	0,02 cm³	»	»	72	»
»	» 34	»	0,002 cm³	»	»	36	»
»	» 18	»	0,002 cm³	überlebt			
»	» 33	»	0,0002 cm³	»			

Das italienische Virus hatte eine zweifellos höhere Virulenz und die damit infizierten Hühner verendeten innerhalb kürzerer Zeiten, gleichgültig ob Hirnemulsion, defibriniertes Blut oder erythrocytenfreies Blutserum als Infektionsstoff benutzt wurde. Das Blutserum war bei diesem Stamm noch in Mengen von 0,0001, meist auch 0,00001 cm³ pathogen und schien daher alle Qualitäten zur Nachprüfung der Mrowkaschen Tanninfällungen mit Hilfe einer quantitativen Methodik zu besitzen, welcher sich weder Mrowka noch auch Miyaji bedient hatten, obwohl von dosologischen Abstufungen mit Recht Aufklärungen zu erwarten waren. Insbesondere war es angezeigt, festzustellen, ob die überstehende Flüssigkeit nach Ausflockung von Hühnerpestserum mit Tannin tatsächlich vollständig, d. h. auch in größeren Gaben avirulent wurde und ob diese Einbusse an Infektiosität im Niederschlag quantitativ nachzuweisen war oder nicht.

11. Versuch.

Huhn 6 wurde mit Gehirn von Huhn 5 intramuskulär injiziert; nach 37 Stunden wurde ein Aderlaß aus der Flügelvene gemacht; zu dieser Zeit war Huhn 6 schwer krank, hatte Diarrhoe, zeigte schleimigen Ausfluß aus dem Schnabel und sank, sich selbst überlassen, wie schlaftrunken nieder. 12 Stunden nach dem Aderlaß plötzlicher Exitus unter Krämpfen. Das Aderlaßblut blieb 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, wurde dann zentrifugiert und das abgeschiedene Serum in nachstehender Art behandelt: 1 cm³ Serum wurde mit 10 cm³ 0,85 proz. NaCl:A)-Lösung versetzt; die Mischung stand 3 Stunden bei Zimmertemperatur sodann erhielten:

Huhn 10: 0,1 cm³ (= 0,01 Originalhühnerserum) intramuskulär. Das Tier verendete nach ca. 30 Stunden an Hühnerpest.

Huhn 7: 0,001 cm³ (= 0,0001 cm³ Originalserum) intramuskulär. Exitus nach 43 Stunden.

B) 1 cm³ Serum wurde mit 9 cm³ 0,85 proz. NaCl-Lösung verdünnt und 1 cm³ einer 10 proz. Tanninlösung (in 0,85% NaCl-Lösung) hinzugefügt. Nach eingetretener Flockung blieb das Gemenge bei Zimmertemperatur stehen, wurde sodann zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit zwei Hühnern in der Menge von 0,1 und 0,001 cm³ eingespritzt. Hierauf wurde der Bodensatz aufgewirbelt, möglichst homogen im Reaktionsvolum verteilt und von dem trüben Gemenge bekamen zwei weitere Hühner die bereits erwähnten Dosen. Alle Verdünnungen zwecks Abmessung der zu injizierenden Quantitäten erfolgten mit 0,85 proz. NaCl-Lösung und mit sterilen Pipetten; für jede Verdünnung wurde eine besondere Pipette benutzt, das Injektionsvolumen belief sich stets auf einen ganzen cm³.

1. Virulenz der überstehenden Flüssigkeit:

Huhn 11: 1 cm^3 (= 0,1 Originalserum) i. m.; überlebt (während der Beobachtungsperiode von 16 Tagen ohne jedes Krankheitszeichen).

Huhn 12: 0,1 cm^3 (= 0,01 Originalserum); überlebt.

2. Virulenz des gesamten Reaktionsgemisches nach dem Wiederaufwirbeln des Präzipitates:

Huhn 8: 0,1 cm^3 (= 0,01 Originalserum); verendet an Hühnerpest in 54 Stunden.

Huhn 14: 0,001 cm^3 (= 0,0001 Originalserum); überlebt, zeigt während einer 16tägigen Beobachtung keine Krankheitserscheinungen.

Aus diesem Experiment, dessen Resultate nach keiner Richtung innere Widersprüche erkennen lassen, geht hervor, daß die nach Tanninflockung und Abzentrifugieren der Eiweißniederschläge gewonnenen überstehenden Flüssigkeiten, die übrigens ganz klar und völlig farblos waren, auch in relativ großen Quanten Hühner nicht mehr zu infizieren vermochten. Mindestens 10000, vielleicht aber auch 100000 oder mehr letale Dosen Hühnerpestvirus waren durch die Ausflockung des Eiweißes jedem cm^3 des Gemisches entzogen worden und letzteres war daher, wenn wir nur das Virus ins Auge fassen, de facto steril geworden. Aber das Defizit fand sich im Präzipitate nicht wieder; 0,001 cm^3 Niederschlag (berechnet auf das Ausgangsvolumen) infizierte nicht und selbst 0,1 cm^3 wirkte noch immer etwas schwächer als 0,001 cm^3 der Kontrolle.

Die Tanninflockung hatte also die Infektiosität des gesamten Reaktionsgemisches auf den hundersten Teil ihres Wertes vermindert; es waren ca. 99% des Hühnerpestvirus zugrunde gegangen, sie hatten ihre Vermehrungsfähigkeit im lebenden Huhn eingebüßt. Dieser Umstand allein genügt, um Mrowkas Annahme vom Globulincharakter des Virus zu entkräften, und den Gedanken an tanninempfindliche Mikroben nahezulegen. Sogar für Bakterien ist Tannin nicht indifferent.

12. Versuch.

Zu Röhrchen, welche je 10 cm^3 verschieden konzentrierter Tanninsolutionen (in 0,85proz. NaCl) enthalten, werden je 0,1 cm^3 einer Suspension von Anthraxbazillen (24stündige Schrägagarkultur) zugesetzt. Nach einer halben und einer Stunde werden Zählplatten gegossen; nach 3, 6 und 10 Stunden werden Mäuse mit je 0,5 cm^3 intraperitoneal geimpft. Die Ziffern bedeuten die Zahlen der Kolonien auf den Zählplatten; — bedeutet negativen Ausfall des Tierversuches, + dagegen die gelungene Milzbrandinfektion.

Zeiten der Probeentnahme	Tanninkonzentrationen				
	1 ‰	2 ‰	5 ‰	1 %	2 %
nach ½ Stunde	∞	26 000	20 000	15 000	1000
„ 1 „	4 500	4 200	6 000	7 000	+
„ 3 Stunden	+	+	+	—	—
„ 6 „	+	+	+	—	—
„ 10 „	+	+	+	—	—

Tanninkonzentrationen von 1 bis 2% töten also Milzbrandstäbchen nach dreistündiger Einwirkungsdauer vollständig ab; Keimverminderung war schon bei weit stärkeren Tanninverdünnungen merklich. Wenn in zehnfach verdünntem Pferde-Ziegen-Meerschweinchenserum die Bakterizidie und entwicklungshemmende Kraft des Tannins nicht manifest wurde, so lag das daran, daß eben das Tannin

durch Eiweiß gebunden und unwirksam wurde, so lange kein bedeutender Tanninüberschuß im Reaktionsgemisch vorhanden war.

Tierische Parasiten sind gegen Tannin weit empfindlicher; sie werden auch durch niedrige Konzentrationen (1:1000 und darunter) rasch abgetötet, falls kein Eiweiß zugegen ist. Eiweiß wirkt schützend aus denselben Gründen, aus welchen es die desinfektorische Kraft des eiweißfällenden Sublimates herabsetzt; an Dysenterieamöben wurde die abtötende Wirkung des Tannins und der antagonistische Einfluß von Eiweiß längst ziemlich genau analysiert. Hier sei zur Illustration das Verhalten von Nagana-Trypanosomen angeführt.

18. Versuch.

Eine mit Nagana-Trypanosomen infizierte Maus wurde auf der Höhe der Infektion getötet und ihr Blut mit 1000fach verdünntem Meerschweinchenserum so weit diluiert, daß 0,5 cm³ 2300 Trypanosomen (in der Zählkammer gezählt) enthielten. Die Verdünnung des Mausblutes erfolgte mit Meerschweinchenserum (1:1000), weil reine NaCl-Lösung stark trypanozide Effekte aufwies, während die gewählte Serumverdünnung innerhalb der Versuchsdauer weder die Beweglichkeit noch die Virulenz der Trypanosomen beeinträchtigte, so daß das beobachtete Absterben der Trypanosomen auf das Tannin zurückgeführt werden durfte. Es wurde nun einerseits eine Kontrolle (10 cm³ Trypanosomenaufschwemmung) angesetzt, anderseits 3 Röhrchen mit je 9 cm³ Trypanosomenemulsion aufgestellt, wovon Nr. 1 einen Zusatz von 1 cm³ 50fach verdünnter, Nr. 2 von 1 cm³ 500fach und Nr. 3 von 1 cm³ 1000fach verdünnter Tanninlösung erhielten. Die Konzentration des Tannins belief sich also in Nr. 1 auf 2 : 1000 (= 2‰), in Nr. 2 auf 0,2‰ und in Nr. 3 auf 0,1 ‰. — Nach 5, 15, 30 und 60 Min. wurden je 0,5 cm³ aus der Kontrolle wie aus jedem der 3 Tanninröhrchen einer weißen Maus injiziert. * bedeutet Tod an Naganainfektion, die zugefügte Ziffer gibt das Intervall zwischen Infektion und Exitus in Tagen an, — bedeutet negatives Resultat, d. h. Überleben des Versuchstieres bei dauernd negativem Blutbefund. (Beobachtungsdauer 12 Tage.)

Tanninkonzentration	Einwirkungsdauer 5 min	15 min	30 min	60 min
0 (Kontrolle)	*6	*6	*6	*6
0,1 ‰	*7	*8	—	—
0,2 ‰	*7	—	—	—
2 ‰	—	—	—	—

Für Trypanosomen wird somit bereits eine Tanninkonzentration von 1:10000 bei 30 Min. langer Einwirkung deletär, selbst wenn geringe Mengen schützender Eiweißkörper vorhanden sind. Je höher die Tanninkonzentration bei gegebener Eiweißmenge steigt, desto mehr verkürzt sich die zur Abtötung notwendige Zeit, bis sie schließlich nur mehr wenige Minuten beträgt.

Das Hühnerpestvirus nähert sich in seiner Empfindlichkeit gegen verschiedene Agentien (Saponin, Galle) sehr den tierischen Mikroorganismen; auch in bezug auf seine Tanninempfindlichkeit scheint es die Bakterien zu übertreffen, ohne jedoch die extreme Hinfälligkeit der Trypanosomen oder Amöben zu erreichen. Von diesem Standpunkt aus bereitet die Analyse der Versuche von Mrowka, Miyaji und mir keine Schwierigkeiten. Das Tannin reißt durch die von ihm verursachte Eiweißflockung die in Serum, in Exsudaten usw. suspendierten Hühnerpestelemente zunächst mechanisch mit, wodurch die Zahl der letzteren auf 1:1000 bis 1:10000

ihres ursprünglichen Wertes abstürzt; gleichzeitig werden die in der überstehenden Flüssigkeit zurückbleibenden Viruspartikelchen durch Tannin geschädigt, und zwar um so intensiver, je länger man nach dem Zusatze des Gerbstoffes zuwartet und je beträchtlicher der relative Überschuß des Tannins über das Eiweiß ist. Die fehlende Infektiosität der überstehenden Flüssigkeiten ist dann nicht weiter merkwürdig, sondern selbstverständlich und mit der Annahme eines belebten Infektionsstoffes viel weniger in Widerspruch als mit der eines Kontagium inanimatum in Form einer Globulinvariante. Ganz besonders mußte der desinfektorische Effekt des Tannins in den Versuchen von Miayji hervortreten, der das virulente Serum zunächst 500fach verdünnte und dann Tannin wiederholt und in effektivem Überschuß zufügte. Die Virulenz der Präzipitate rührt von den durch das Eiweiß mitgerissenen Virusteilchen her, die durch ihre Umhüllung mit dem stark adsorbierenden Mantel der Tannin-Eiweißverbindung vor der raschen Abtötung durch einen vorhandenen Tanninüberschuß geschützt sind, ein Schutz, welcher, wie gezeigt werden konnte, nicht unter allen Umständen ausreicht.

Bei der Fällung mit Ammonsulfat oder durch Dialyse liegen die Verhältnisse ähnlich; im ersten Falle wirkt die starke Hypertonie, im zweiten die Hypotonie schädigend auf lebende Zellen und bei beiden Versuchsanordnungen sind die in der überstehenden Flüssigkeit frei suspendierten Mikroben der Noxe stärker exponiert als die vom Eiweißkoagel umgebenen im Präzipitat.

Mrowka führt noch an, daß es ihm durch Waschen der virulenten Präzipitate nicht gelungen sei, das Virus vom Eiweiß zu trennen; die Waschwässer seien stets avirulent geblieben. Es unterliege daher keinem Zweifel, daß das filtrierbare Virus dem Eiweiß der Substrate, in denen es vorkommt, anhafte, und daß es entweder ein selbständiger eiweißartiger Körper sei, oder daß das Eiweiß der Körperflüssigkeiten des Huhnes selbst zum Virus werde. Diese Argumentation ist nicht zwingend. Schon im Jahre 1909 konnten Kraus, v. Eisler und Fukuhara zeigen, daß verschiedene Stoffe wie z. B. Gewebszellen, Kaolin, Kohle usw. imstande sind, Lyssavirus oder auch Hühnerpestvirus zu fixieren und daß die „Wiederabspaltung" des im Adsorbens vorhandenen und nachweisbaren Virus durch einfaches Waschen der virusbeladenen Stoffe mit physiologischer NaCl-Lösung nicht immer gelingt. Ähnliche Angaben finden sich auch bei Rosenthal, Ruß, Doerr und R. Pick. Es wurde versucht, wie sich ausgeflockte Bakterien gegen die Waschprozeduren verhalten und da ergab sich ebenfalls, daß der Niederschlag die Mikroben zähe festhält, und daß diese nur schwer und sehr unvollständig wieder auswaschbar sind.

14. Versuch.

10 cm³ 10fach verdünntes Perdeserum werden mit 0,1 cm³ Kolisuspension und mit 1 cm³ 10proz. Tanninlösung versetzt, bleiben dann 2 Stunden im Eisschrank und werden 30 Minuten zentrifugiert. Sodann wurde die überstehende Flüssigkeit abgehebert, durch sterile physiologische Kochsalzlösung ersetzt, der Niederschlag aufgewirbelt und neuerdings zentrifugiert; die Prozedur wurde dreimal wiederholt. Die Bestimmung des Keimgehaltes erfolgte durch Agarzählplatten bei der überstehenden Flüssigkeit, beim ersten, zweiten und dritten

Waschwasser und bei dem nach dem dritten Waschen in 11 cm³ physiologischer Kochsalzlösung möglichst homogen verteilten Präzipitate.

Bezeichnung der Probe	Keimgehalt im cm³
Überstehende Flüssigkeit	60
Erstes Waschwasser	2000
Zweites Waschwasser	7000
Drittes Waschwasser	800
Aufgewirbelter Niederschlag nach dem dritten Waschen	540000

Die überwiegende Menge der Kolibazillen blieb also im Eiweißniederschlage stecken. Die Waschwässer waren allerdings nicht steril, wie man das angesichts der Angaben von Mrowka über die Nichtinfektiosität der Waschwässer virulenter Hühnerpesteiweißpräzipitate hätte erwarten können; diese Differenz ist aber wahrscheinlich auf die viel bedeutendere Größe der Kolibazillen, auf ihre Eigenbeweglichkeit ,vor allem aber darauf zurückzuführen, daß die Hühnerpestkeime nur dann vor der Tanninwirkung geschützt bleiben, wenn sie allseits von Eiweiß umhüllt, daher nicht auswaschbar sind.

Für die Zellnatur der filtrierbaren Krankheitserreger läßt sich außerdem noch ein Beweis positiver Natur heranziehen. Es sind in der letzten Zeit zahlreiche Untersuchungen über die sog. oligodynamischen Wirkungen angeführt worden, aus denen geschlossen werden mußte, daß die Oligodynamie Zellen aller Art schädigt, daß man sie als ein Zellgift betrachten darf, welches von der biologischen Eigenart der Zelle im weitesten Umfange unabhängig ist. Die oligodynamischen Stoffe töten Algen (Nägeli), Bakterien, Protozoen (Salus), sie hämolysieren Erythrozyten (Wollmann, Hausmann, Doerr, Heß und Reitler, Luger); es lag daher nahe, die oligodynamische Empfindlichkeit des Hühnerpestvirus zu prüfen, um so mehr als Funktionen nicht organisierter Stoffe durch blanke Metalle nur wenig beeinflußt werden, auch wenn sie sonst sehr labil und so leicht zerstörbar sind wie etwa die Komplementwirkung frischen Meerschweinchenserums (mündliche Mitteilung von Doerr).

In der Oligodynamie darf man daher bis zu einem gewissen Grade tatsächlich ein Differenzierungsmittel zwischen lebenden Zellen und nicht organisierten Stoffen erblicken, wenn auch kein absolut zuverlässiges, da ja nach Baumgarten und Luger auch Fermente, Toxine durch oligodynamische Einflüsse leiden. Immerhin bestehen doch sehr evidente quantitative Unterschiede in der oligodynamischen Resistenz von Zellen und nicht belebten Stoffen, welche die erwähnten Versuche als gerechtfertigt erscheinen ließen.

Eiweißgegenwart schwächt die oligodynamischen Wirkungen bekanntlich ab; darauf mußte geachtet werden, da sich das Hühnerpestvirus nur in stark eiweißhaltigen Flüssigkeiten vorfindet und unbeschädigt vom Eiweiß nicht abgetrennt werden kann. Ein Ausweg bestand in der Möglichkeit, das virulente Hühnerserum 1000fach zu verdünnen; anderseits wurde das blanke Silber in den Hühnerserumverdünnungen belassen, wobei der antagonistische Effekt des Eiweißes schließlich überwunden wird (vgl. auch Luger). Um Kontrollen zu gewinnen und um die oligodynamische Resistenz der Hühnerpestkeime mit jener von bekannten Bakterien und Protozoen zu vergleichen, wurden Kolibazillen und Nagana-Trypanosomen unter völlig identischen Bedingungen untersucht.

15. Versuch.

In eine kleine Glasdose wurde eine Silbermünze (Fünffrankenstück) gelegt und mit 10 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung überschichtet. Nach 16stündigem Stehen wurde 0,1 cm^3 10fach verdünnten Hühnerpestserums zugefügt, so daß die tatsächliche Verdünnung des virulenten Originalserums 1:1000 betrug. Nach 5, 15 und 60 Minuten sowie nach 3 Stunden wurde je 1 Huhn mit 1,0 cm^3 dieser Flüssigkeit intramuskulär geimpft.

In eine zweite gleich große Glasdose kamen 10 cm^3 physiologischer NaCl-Lösung und nach 16stündigem Stehen 0,1 cm^3 des gleichen 10fach verdünnten virulenten Hühnerpestserums. 3 Stunden nach dem Zusatze des letzteren wurde ein Kontrollhuhn mit 1 cm^3 dieser Flüssigkeit intramuskulär injiziert.

Außerdem wurde die Virulenz des Originalserums vor der Verdünnung gemessen; sie war sehr beträchtlich.

a) Virulenz des verwendeten Hühnerpestserums:
   Huhn 47 erhält 0,001 cm^3 i. m., verendet in 46 Stunden;
   Huhn 46 erhält 0,00001 cm^3 i. m., verendet in 49 Stunden;
b) Virulenz der oligodynamisch beeinflußten, 1000fachen Serumverdünnung:
   Huhn 48 erhält 1 cm^3 (= 0,001 cm^3 Originalvirus) nach 5 Minuten langer Einwirkungsdauer des Ag, und verendet nach 51 Stunden;
   Huhn 49 erhält die gleiche Dosis nach 15 Minuten und verendet nach 48 Stunden;
   Huhn 50 erhält die gleiche Dosis nach 60 Minuten und verendet nach 60 Stunden;
   Huhn 51 erhält die gleiche Dosis nach 3 Stunden und überlebt dauernd;
c) Kontrolle der Virulenz des 1000fach verdünnten Serums nach dreistündigem Stehen der Verdünnung;
   Huhn 52: 1 cm^3 i. m. verendet in 48 Stunden.

16. Versuch.

In zwei kleine Glasdosen kommen je 10 cm^3 physiologische NaCl-Lösung, in die eine wird ein Fünffrankenstück eingelegt. Nach 16stündigem Stehen wird zu beiden Dosen je 0,1 cm^3 einer Aufschwemmung von Kolibazillen im zehnfach verdünntem Meerschweinchenserum zugesetzt, so daß die Serumkonzentration von diesem Augenblick an in beiden Dosen 1:1000 betrug. Nach steigenden Zeitintervallen wird mit je einer Öse Flüssigkeit aus Dose I (olygodynamisch beeinflußt) und Dose II (durch Ag nicht beeinflußt) ein Schrägagarröhrchen beimpft. Nach 24stündigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° C werden die Agarröhrchen kontrolliert und das Wachstum verzeichnet.

Zeitintervalle	I. Oligodynamisch beeinflußt	II. Nicht beeinflußt
2 min	sehr reichliches Wachstum	sehr reichl. Wachstum
5 »	» » »	» » »
10 »	» » »	» » »
15 »	» »	» » »
25 »	spärliches Wachstum	» » »
30 »	kein Wachstum	» » »
45 »	» »	» » »
60 »	» »	» » »
180 »	» »	» » »

17. Versuch.

Versuchsanordnung wie im 15. und 16. Versuch, nur daß die Flüssigkeit in den beiden Glasdosen mit 0,1 cm^3 einer Trypanosomenaufschwemmung in zehnfach verdünntem Meerschweinchenserum beschickt wurde; die Dichtigkeit der endgültigen Trypanosomenemulsion belief sich in beiden Dosen auf 2500 Trypanosomen im halben cm^3. Nach steigenden Zeitintervallen wurden weiße Mäuse mit je 0,5 cm^3 der trypanosomenhaltigen Flüssigkeit aus den Dosen I (oligod.) und II (nicht oligod.) intraperitoneal injiziert.

Zeitintervalle	I. (oligodynamisch)	II. (nicht oligodynamisch)
2 min	überlebt	tot in 6 Tagen
5 »	»	» » 6 »
15 »	»	» » 6 »
30 »	»	» » 6 »
60 »	»	» » 6 »
180 »	»	überlebt

Die Trypanosomen starben also fast momentan ab, wobei allerdings auch die geringe Eiweißkonzentration und zu starke Überwiegen von Na- und Cl-Ionen mitwirkten, da die nicht oligodynamisch beeinflußte Kontrolle 3 Stunden nach der Einsaat der Trypanosomen gleichfalls nicht mehr infektiös war. Erhöhte man den Serumgehalt in der Kontrolle und eliminierte damit gleichzeitig die einseitige Ionenkombination der Suspensionsflüssigkeit, so hielten sich die Trypanosomen viel länger vermehrungsfähig und infektiös; aber die Schnelligkeit der oligodynamischen Abtötung wurde in zahlreichen Versuchen dieser Art nicht vermindert, so daß Trypanosomen ein ausgezeichnetes Reagens für oligodynamische Einflüsse darstellen.

Das Hühnerpestvirus war gegen die oligodynamische Wirkung des Silbers nicht so empfindlich wie die Trypanosomen, sondern zeigte ein Verhalten, welches dem der vegetativen Form der Bakterien entsprach. Immerhin wurden bedeutende Mengen (100 letale Dosen im cm^3) innerhalb von 30 Min. sichtlich abgeschwächt, in einer Stunde komplett abgetötet.

Auch in seiner Resistenz gegen die Giftigkeit reiner NaCl-Lösung schien das Hühnerpestvirus den Bakterien näher zu stehen; vielleicht sind es hier Einfachheiten der Organisation und chemischen Konstitution, welche den tierischen Charakter des Parasiten überdecken.

18. Versuch.

Das Serum eines infizierten Huhnes wirkte in folgender Weise: 0,01 cm^3 intramuskulär tötete Huhn 41 in ca. 48 Stunden, 0,001 cm^3 intramuskulär tötete Huhn 42 in ca. 5 Tagen, 0,0001 cm^3 intramuskulär tötete Huhn 43 in zirka 48 Stunden.

Es wurde eine 1000fache Verdünnung dieses Serums in physiologischer NaCl-Lösung angesetzt und von dieser Verdünnung je 1 cm^3 nach zwei- und vierstündigem Stehen je einem Huhn (Nr. 44 und 45) intramuskulär eingespritzt. Beide Hühner verendeten in ca. 48 Stunden.

Zusammenfassung.

Hühnerpestvirus kann aus Eiweißsolen, in welchen es enthalten ist (Serum, Exsudaten von infizierten Hühnern), durch totale oder partielle Fällung des Eiweißes (mit Tannin, Ammonsulfat, durch Dialyse) so vollständig entfernt werden, daß die überstehenden Flüssigkeitsmassen für Hühner avirulent sind; in den Eiweißniederschlägen läßt sich das Virus durch den Tierversuch nachweisen (Mrowka).

Diese Beobachtung rechtfertigt nicht die Annahme, daß es nicht organisierte, unbelebte, aber doch vermehrungsfähige Vira gibt, welche die Natur gelöster, flockbarer und reversibler Globuline besitzen, sondern erklärt sich durch mechanisches Mitgerissenwerden der zelligen Viruselemente im Verein mit den viruliziden Fähigkeiten der Fällungsmittel (Tannin, Ammonsulfat, Elektrolytenmangel und Hypotonie) zur Genüge.

In den Tanninpräzipitaten aus Hühnerpestserum findet man nur verschwindende Bruchteile der ursprünglichen Virusmengen, welche durch ihre Eiweißumhüllung der Abtötung entschlüpfen. Beide Faktoren (Mitreißung und Schädigung durch das fällende Agens) manifestieren sich in gleicher Weise, wenn man das filtrierbare Virus durch Zellen von mikroskopischer Größenanordnung ersetzt; auch hier erfolgt eine weitgehende Entkeimung (bis auf 0,1, ja 0,01 ‰) infolge der Ausflockung des Eiweißes der Suspensionsflüssigkeiten; die Keime können ebenfalls in den Niederschlägen nachgewiesen und aus denselben nur zum geringsten Teil durch Waschen wieder frei gemacht werden. Unterschiede zwischen Bakterien und Hühnerpestvirus existieren nur insoferne, als letzteres gegen die Schädigung durch Gerbung (Tannin) viel empfindlicher ist als die meisten vegetativen Bakterienformen und dadurch seine engere Verwandschaft mit den Protozoen dokumentiert, welche auch durch sein Verhalten gegen Saponin und Galle wahrscheinlich gemacht wird.

Gegen oligodynamische Wirkung ist das Hühnerpestvirus etwa so empfindlich wie vegetative Bakterien, was dafür spricht, daß es aus Zellen im eigentlichen Sinne des Wortes besteht. Gegen die Giftwirkung reiner NaCl-Lösung besitzt das Virus ebenfalls die bei den meisten Bakterienspezies beobachtete Resistenz.

Trypanosomen sind gegen die beiden letztgenannten Reagentien wie gegen Tannin maximal empfindlich und stellen ein durch die besondere Organisation bedingtes starkes Extrem der tierischen Parasiten dar.

Tannin bzw. die Widerstandsfähigkeit gegen Gerbstoffe lassen sich wahrscheinlich mit Vorteil verwenden, um die Frage nach der pflanzlichen oder tierischen Natur von Zellen zu beantworten.

* * *

Am Schlusse der vorliegenden Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor R. Doerr für die gütige Überlassung des Thema und für das rege Interesse, das er dem Verlaufe der Untersuchungen entgegengebracht hat, auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Literaturangabe.

1. Andreiwsky, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 75, 1915.
2. Bauer, Bericht der Deutsch. Bot. Gesellschaft 1904 und 1906.
3. Bechhold, Die Kolloide in der Biologie und Medizin, 2. Aufl.
4. Beijerinck, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 5.
5. Borrel, Annal. d. l'Inst. Pasteur, 1903.
6. Centanni, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 31, 1902.
7. Doerr, Zentralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, 1911.
8. Doerr, Biochem. Zeitschr. Bd. 106, 107 und 113, 1920.
9. Doerr und Pick, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 76, 1915.
10. Van Es und Schalk, Annal. d. l'Inst. Pasteur. 1918.
11. von Esmarch, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 32, 1902.
12. Erdmann, Arch. f. Protistenkunde Bd. 41, H. 2, 1920.
13. Frei, Arch. f. wissenschaftl. und praktische Tierheilkunde Bd. 46, H. 3, 1920.
14. Heß und Reitler, Med. Klinik 1920.

15. Hofstädter, Arch. f. Hyg. Bd. 53, 1905.
16. Hunger, Bericht der Deutsch. Bot. Gesellschaft 1905.
17. Hutyra und Marek, Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere, 5. Aufl., 1920.
18. Joest, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 31, 1902.
19. Iwanowsky, Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 5.
20. Kraus und Doerr, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 46, 1908.
21. Kraus, v. Eisler, Fukuhara, Zeitschr. f. Imm. Forsch. Bd. I, H. 2, 1909.
22. Kraus und Löwe, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 76, 1917.
23. Landsteiner und Berliner, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 67, 1913.
24. Lipschütz, Handb. d. pathog. Mikroorganismen, 2. Aufl., Bd. 8, 1913.
25. Lode und Gruber, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 30, 1901.
26. Lode, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 31, 1902.
27. Lode, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 43, 1907.
28. Löffler, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 50, Ref. 1911.
29. Marchoux, Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences 1908.
30. Maue, Arbeiten aus dem Kaiserl. Ges.-Amt Bd. 21, 1904.
31. Miyaji, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 74, 1914.
32. Molisch, Bot. Zeitschr., Abt. I, 1908.
33. Mrowka, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 67, 1913.
34. Noguchi, Zentralbl. f. Bakt., Ref. Bd. 69, 1920.
35. Ostertag, Handb. d. pathog. Mikroorganismen Bd. 6, 2. Aufl., 1913.
36. Ottolenghi, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 67, 1913.
37. Provazek, M. M. W. 1908, S. 165, S. 1016 und S. 1524.
38. Rosenthal, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 40, 1906.
39. Roux, Bulletin de l'Inst. Pasteur, 1903.
40. Ruß, Arch. f. Hyg. Bd. 59, 1906.
41. Sangiorgi, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 72, 1914.
42. Salus, Wiener klin. W. 1919, Nr. 51.
43. Seiderhelm, K. R. und R., Arch. f. exp. Pathol. und Pharmakologie Bd. 72, 1914 und Bd. 82, 1918.
44. Sollmann, Journ. of pharmocol. a. exp. therap. Bd. 16, Nr. 1, S. 49 bis 59, 1920. ref. Doerr, Kongreßzentralbl. f. d. gesamte innere Med.
45. Wollmann, Wiener klin. W., 1917.

Studien über die Resorption von Blei und Quecksilber bzw. deren Salzen durch die unverletzte Haut des Warmblüters.

Von

Privatdozent Dr. med. **Philipp Oskar Süfsmann,**

Assistent am Hygienischen Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Würzburg. Vorstand: Geheimrat Professor Dr. K. B. Lehmann.)

(Mit 1 Tafel.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 10. März 1921.)

Vorwort.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war ein vorwiegend praktisches. Es sollte die seit Jahrzehnten schwebende Streitfrage, ob und in welchem Umfange Blei und Quecksilber bzw. ihre Salzverbindungen von der Haut des Warmblüters resorbiert werden, durch einwandfreie Versuche gelöst werden. Gewerbehygiene und Dermatologie haben ja in gleicher Weise ein Interesse daran, daß diese so oft aufgeworfene, so oft mit unzureichender Methodik in Angriff genommene und bald mit „ja", bald mit „nein" beantwortete Frage endlich aus dem Reiche des Zweifels gezogen werde. So sehr aber bei der Inangriffnahme des Themas auf die praktischen Verhältnisse Rücksicht genommen wurde, so schien es im Interesse einer kritischen Beurteilung doch nicht angängig, theoretischer Überlegungen ganz zu entraten. Ich habe deshalb versucht, das engere Problem als Spezialfall allgemein-physiologischer Fragestellungen zu entwickeln; vielleicht ist damit erreicht, daß die Experimentalergebnisse, die für sich allein nur beschränkten Tatsachenwert besitzen, allgemeinere Bedeutung gewinnen.

Die Anregung zur Bearbeitung des Themas gab mir mein hochverehrter Lehrer, Herr Geheimrat Prof. Dr. K. B. Lehmann, dessen experimenteller Erfahrung ich außerdem manch wertvollen Wink verdanke; ihm dafür an dieser Stelle zu allererst meinen ergebensten Dank auszusprechen, erscheint mir deshalb als eine Ehrenpflicht. Nicht versäumen möchte ich des weiteren, dem Abteilungsvorstand am Hygienischen Institut, Professor H. K. Lang, für seine stets bewiesene Hilfsbereitschaft

herzlich zu danken. In Einzelfragen liehen mir ihre Unterstützung die Herren Geheimrat Prof. Dr. M. von Frey, Geheimrat Prof. Dr. M. B. Schmidt, Professor Dr. L. R. Müller; ihnen allen auch hier nochmals Dank sagen zu können, gereicht mir zu besonderer Genugtuung.

Einleitung.

Über die Beziehungen der Hautresorption zum allgemeinen Resorptionsproblem.

Mit Resorption bezeichnen wir die Aufnahme gelöster Stoffe in das Innere der lebenden Substanz. Die Resorbierbarkeit eines Körpers ist die erste Grundbedingung für seine Verwendungsmöglichkeit im Stoffwechselhaushalt, die Resorption also der erste und allgemeinste prinzipielle Vorgang des Stoffwechsels überhaupt. Diese Definition führt uns dazu, das Problem der Resorption zunächst als ein zellular-physiologisches anzusehen. Die einfachste Betrachtungsweise besteht darin, sich die Zelle von einer wässerigen Lösung des zu resorbierenden Stoffes allseitig umgeben vorzustellen. Nach neueren Auffassungen besteht die protoplasmatische Substanz, wenigstens der tierischen Zellen, aus einer Gallerte, in welcher eine schwache wässerige Eiweißlösung die eine, ein reversibles Eiweißhydrogel die andere Phase ist. Eine Reihe von Stoffen, kristalloider wie kolloider Natur, ist in dieses Maschenwerk eingelagert, ohne daß wir über die dabei auftretenden Strukturen etwas Sicheres auszusagen imstande wären. Ein besonderer Anteil an dem ultramikroskopischen Aufbau des Protoplasmas scheint indes lipoiden Substanzen (Lezithinen, Cholesterinen) zuzukommen, welche sich wahrscheinlich an der Zelloberfläche angereichert vorfinden und an der Bildung der theoretisch geforderten, wenn auch unsichtbar dünnen Plasmahaut beteiligt sind.

Es liegt nahe, in dem osmotischen Druck die Kraft zu erblicken, welche gelöste Stoffe veranlassen könnte, aus der Außenflüssigkeit durch die Plasmahaut ins Zellinnere einzudiffundieren; auch für den Übertritt von Wasser ist man versucht, eine osmotische Verschiebung bei äußerer Hypotonie verantwortlich zu machen. In der Tat hat sich in schönen Experimenten zeigen lassen, daß die Schnelligkeit des Eindringens der Diffusionsgeschwindigkeit bzw. der Höhe des osmotischen Druckes oft entspricht.

Allein, es gab auch genug Fälle, wo eine solche Erklärung versagte. Wenn z. B. aus einer hypertonischen Kochsalzlösung gleichwohl Wasser in das Darmepithel übertrat (Heidenhain), so blieb in Unkenntnis weiterer Kräfte keine andere Möglichkeit als hierin einen aktiven vitalen Vorgang zu sehen.

Mit der Erkennung der Gallertstruktur der Zelle wurde die Bedeutung der Quellung in den Vordergrund des Interesses gerückt. Der Quellungsdruck kann die Größe des osmotischen Druckes erreichen, ja er vermag ihn unter Umständen noch zu überwinden und eine Lösung zu konzentrieren. Hängt man z. B. nach C. Ludwig eine gut getrocknete Tierblase in kon-

zentrierte Kochsalzlösung, so quillt die Blase unter Aufnahme einer schwachen Lösung, während sich in der Flüssigkeit Kochsalzkristalle abscheiden. Insofern die Quellfähigkeit von Gallerten durch Elektrolyte je nach deren Konzentration und chemischen Natur bald vermehrt bald verringert wird, erscheint die Quellung als ein Prozeß, welcher in weitestgehendem Maße regulatorischer Beeinflussung zugänglich ist. Doch wird mit der Ergründung solcher Abhängigkeiten das Resorptionsproblem keineswegs gelöst; denn es erfährt dieses zunächst noch eine erhebliche Komplikation durch die Frage nach den Bedingungen für die Resorbierbarkeit einer Substanz.

Seit langem war man sich darüber klar, daß nicht die chemische Beschaffenheit, sondern physikalische Eigenschaften in erster Linie für die Resorbierbarkeit maßgebend sind, aber erst C. E. Overton hat in seinen zahlreichen Untersuchungen an Pflanzen- und Tierzellen allgemeingültige Regeln aufgestellt. Nach ihm verhält sich die Zelle so, als wäre sie von einer zusammenhängenden Lipoidmembran umschlossen; Substanzen, welche in dieser Membran löslich sind, werden resorbiert, lipoidunlöslichen ist der Eintritt versperrt. Die Resorptionsgeschwindigkeit hängt ab von der Größe des »Teilungskoeffizienten« $\frac{\text{Lipoidlöslichkeit}}{\text{Wasserlöslichkeit}}$, wobei die Wasserlöslichkeit den Wert Null allerdings nicht erreichen darf; denn da alle Zellen von einem wässerigen Medium umgeben sind und selbst zu einem erheblichen Teil aus Lösungswasser bestehen, so vermag ein wasserunlöslicher Stoff mit der lebendigen Substanz überhaupt nicht in Wechselwirkung zu treten.

Die Overtonsche „Lipoidtheorie" hat in vielfachen Experimenten eine glänzende Bestätigung erfahren, obgleich sie in einem seltsamen Gegensatze zu der Tatsache steht, daß diejenigen Stoffe, deren die Zelle zu ihrem Stoffwechselbetriebe in erster Linie bedarf, wie Aminosäuren, Zucker, Mineralsalze, keinerlei Lipoidlöslichkeit besitzen und deshalb gar nicht resorbierbar sein könnten. Und wenn man auch auf der anderen Seite gerade darin wieder eine besondere Zweckmäßigkeit, ja Selbstverständlichkeit erblicken kann, daß auf solche Weise auch ein schrankenloses Herausdiffundieren dieser wichtigen Kristalloide aus dem Zellinnern vermieden wird und der Charakter einer Zelle als eines geschlossenen chemischen Systems gewahrt bleibt, so wird der merkwürdige Widerspruch dadurch nicht aufgehoben.

Es wurden denn auch die verschiedenartigsten Versuche gemacht, auf anderem Wege zu einer plausiblen Erklärung der Resorptionserscheinungen zu gelangen. Z. B. vertritt Ruhland die Anschauung, daß die Plasmahaut wie ein Bechholdsches Ultrafilter wirke und angrenzenden gelösten Stoffen den Eintritt nur nach Maßgabe ihrer Teilchengröße gestatte. Doch läßt diese Ansicht, die zwar die Notwendigkeit des vorhergehenden Spaltung von Eiweiß, Stärke usw. zum Zweck ihrer Resorption begreiflich macht, die doch sicher bewiesene Tatsache eben wieder unberücksichtigt, daß die lipoidlöslichen Stoffe besonders schnell resorbiert werden, Alkohol z. B. erheblich rascher als Kochsalz trotz des nahezu gleichen Molekulargewichts.

Wenn man sich eine Anschauung von den Resorptionsvorgängen machen will, welche allen Erscheinungen einigermaßen gerecht wird, so wird man wohl an Vorstellungen von F. Czapek anknüpfen müssen, welcher die Plasmahaut nicht als zusammenhängende Lipoidmembran wie Overton, sondern als eine konzentrierte Lipoidemulsion in einem wässerigen Dispersionsmittel (Eiweißgallerte) betrachtet. Eine derartige Plasmagrenzschicht kann nicht nur sehr weitgehender zellindividueller Verschiedenheiten (s. u.) sondern auch an ein und derselben Zelle erheblicher physikalischer Zustandsänderungen fähig sein: Quellung des Eiweißgerüstes mit Auseinanderdrängung der Lipoidteilchen wird wasserlöslichen Stoffen den Durchtritt erleichtern, starke Entquellung umgekehrt erschweren oder — möglicherweise unter Zusammenfließen der Lipoidtröpfchen zu einer zusammenhängenden Schicht (Clowes) — völlig verhindern. Auch der Quellungszustand des Lezithins, von welchem der Dispersitätsgrad des in ihm gelösten hydrophoben Cholesterins abhängt (Bechhold), wird dabei von größter Bedeutung sein. Bechhold weist auch darauf hin, daß eine solche Vorstellung recht gut mit der erwähnten Ruhlandschen Ultrafiltrationstheorie in Einklang zu bringen ist. Wir können uns mit ihrer Hilfe verständlich machen, daß der Weg ins Zellinnere kolloiden Substanzen stets, wasserlöslichen Kristalloiden nur zu gewissen Zeiten versperrt ist, während lipoidlösliche Stoffe jederzeit ungehinderten Eingang finden. Der Zustand der Plasmahaut, in welchem die Oberflächen der einzelnen Lipoidteilchen sich so genähert sind, daß ein Durchtritt rein wasserlöslicher Substanzen praktisch unmöglich geworden ist und eine Aufnahme von Stoffen nur noch nach dem Grade der Lipoidlöslichkeit in physikalischer Gesetzmäßigkeit stattfindet, stellt den Zustand der „physikalischen Permeabilität" dar, welcher der Ruhezustand der Zelle ist; die Quellung des Eiweißgerüstes führt zum Zustand der „physiologischen Permeabilität", in welchem wir einen aktiven Funktionszustand der Zelle zu erblicken haben. Die Regulatoren, unter deren Herrschaft die Zustandsänderungen der Plasmahaut stehen, werden mit den Einflüssen identisch sein, die für den Quellungszustand des Protoplasmas überhaupt ausschlaggebend sind; d. h. sie bestehen wohl in dem qualitativen und quantitativen Ionisationsbild, welches einer bestimmten nutritiven Verfassung der Zelle entspricht. Damit gliedert sich das qualitative Resorptionsproblem in gewissem Maße ein in die Grundfrage nach der Erklärung der resorptiven Funktion.

Ohne diese Vorstellungen noch mit Überlegungen über die Wirkung der Adsorption zu komplizieren, der ebenfalls eine vielleicht nicht unerhebliche Rolle beim Eintritt von Stoffen ins Zellinnere zukommt, wollen wir uns damit von der Betrachtung der zellulären Resorption abwenden, um die besonderen Verhältnisse ins Auge zu fassen, welche bei flächenhafter, epithelialer Anordnung der Zellen entstehen. Wir machen hier die Erfahrung, daß die Resorption zumeist eine „seitige" ist, d. h. daß die Stoffaufnahme auf der einen Oberfläche des Epithelgewebes erfolgt, während auf der entgegengesetzten Seite eine Ausscheidung stattfindet. Machen bei dieser Stoffwanderung die aufgenommenen Substanzen im Zellinnern erhebliche chemische Veränderungen durch, so pflegen wir

im allgemeinen von einer sezernierenden Tätigkeit des Gewebes zu sprechen, während im umgekehrten Falle, wenn also die abgegebenen Stoffe den aufgenommenen annähernd gleichen, ein einfacher Durchtritt, eine Permeation, vorzuliegen scheint. Eine strenge Scheidung der beiden Prozesse ist unmöglich; auch die „Permeation" durch lebendes Epithel, wenigstens die der lipoidunlöslichen Stoffe, stellt eine aktive Zelltätigkeit, eine verwickelte regulierte Kombination von Quellungs- und Entquellungsvorgängen dar. Durch den Tod des Gewebes fallen die nur im steten Wechsel des Stoffumsatzes möglichen automatischen Regulationen des Quellungszustandes fort; Gerinnungsvorgänge führen weiterhin zu einer tiefgreifenden irreversiblen Veränderung der ultramikroskopischen Struktur. Darum muß es klar sein, daß Permeabilitätsversuche an toten Membranen unter keinen Umständen einen Anhaltspunkt für die resorptive Kraft eines lebenden Gewebes geben können.

Zu den Eigentümlichkeiten der räumlichen Verbindung vieler Zellen gehört es, daß eine Ansaugung von Flüssigkeit und gelöster Substanz auch durch die Kapillarräume zwischen zwei benachbarten Zellen möglich ist. R. Höber hat z. B. den interzellularen Durchtritt von molybdänsaurem Ammonium durch das Darmepithel sicherstellen können; ob diesem Resorptionsmodus tatsächlich eine hohe allgemeine Bedeutung zukommt, muß die Zukunft noch lehren.

Es darf auch der Hinweis darauf nicht unterlassen werden, daß bei der Betrachtung epithelialer Resorption eine Permeabilität sogar für feste Stoffe durch die Tätigkeit phagozytierender Wanderzellen vorgetäuscht werden kann, welche die Epithelschicht durchsetzen und mit Substanz beladen ihren Weg in den Körper zurücknehmen, wie es bei der Verschleppung des Kohlenstaubes aus der Lunge der Fall ist.

Von den verschiedenen Epithelien des tierischen Körpers sind nicht alle mit einer Quellfähigkeit gleicher Intensität ausgestattet. Man darf annehmen, daß jedem funktionell differenzierten Epithelgewebe ein typischer Quellungszustand entspricht, der sich übrigens auch der chemischen Analyse durch einen charakteristischen Prozentgehalt an Wasser und lipoider Substanz verraten müßte; zusammenfassende Untersuchungen liegen hierüber noch nicht vor. Voraussichtlich würde sich aber die Tatsache ergeben, daß stark resorbierende Epithelien, deren Quellungsvermögen in besonders hohem Maße beansprucht wird, relativ wasserreich und lipoidarm sind, während solche epitheliale Zellverbände, deren Aufgabe mehr in der isolierenden Bedeckung des unterliegenden Gewebes liegt, verhältnismäßig weniger Wasser und desto mehr lipoide Substanzen enthalten. Die Epithelzellen der letzten Sorte werden natürlich auch eine Plasmahaut mit besonders dichter lipoider Durchtränkung besitzen; sie sind Zellen, welche sich dauernd in einem Zustande schwacher „physiologischer Permeabilität" befinden. Je mehr dies der Fall ist, um so mehr muß das Epithel den physikalischen Gesetzen gehorchen, welche für den resorptiven Ruhezustand Geltung haben (Vorherrschen osmotischer Vorgänge, Impermeabilität für lipoidunlösliche Substanzen).

Unter allen Epithelien des Tierkörpers besitzt die Epidermis das geringste Quellungsvermögen; unsere Betrachtungen, welche schon Ge-

fahr liefen, allzu spekulativ zu werden, gewinnen jetzt wieder Tatsachenboden mit der Feststellung, daß die Resorptionsverhältnisse der Amphibienhaut Overton wirklich als Musterbeispiel für die Richtigkeit seiner „Lipoidtheorie" galten.

In der Tat, schon die Oberhaut des Kaltblüters, selbst wenn sie nur aus wenigen unverhornten Epithelschichten besteht (Amphibienlarve), ist für Mineralsalze, Zuckerarten und andere lipoidunlösliche Körper praktisch undurchdringlich, während Äther, Alkohol, Anilin, Sauerstoff, Kohlensäure, überhaupt alle in Lipoiden löslichen Stoffe, auch das Wasser (in welchem Lezithin zu quellen vermag), Eingang finden. Mögen die Overtonschen Anschauungen von der wissenschaftlichen Kritik im allgemeinen mit Recht als unzureichend erklärt worden sein — für die Permeabilitätsverhältnisse der tierischen Epidermis haben sie ihre Geltung in vollem Maße behalten, und wir hätten sie ohne weitere Umschweife den auf unser spezielles Thema zusteuernden Ausführungen zugrunde legen können, wenn es nicht doch im Interesse einer klaren Übersicht nützlich geschienen hätte, an die folgenden Fragen von einem allgemeineren Standpunkte aus heranzutreten.

I. Die Permeabilitätsverhältnisse der Warmblüterhaut und die Aufnahmemöglichkeiten von Blei und Quecksilber.

Die Epidermis der Säugetiere und Vögel ist nicht nur durch ihre Vielschichtigkeit, sondern auch dadurch ausgezeichnet, daß die äußersten Epithellagen absterben und vertrocknen, wobei das Exoplasma der Zellen eine als „Verhornung" bezeichnete, chemisch noch wenig aufgeklärte Veränderung erleidet. Die Hornlamellen stoßen sich kontinuierlich in kleinsten Schüppchen ab; ihr Ersatz wird durch stetiges Nachrücken und Verhornen der tieferen Epithelschichten besorgt. Diese gehen gegen das bindegewebige Corium hin in das Stratum germinativum über, dessen tiefste Lagen zahlreiche mitotische Zellteilungen aufweisen. Bei den Säugetieren wird die Epidermis von den meist in die Haarbälge einmündenden Talgdrüsen und den Schweißdrüsen durchbohrt, die sich tief ins Corium und das Unterhautzellgewebe einsenken.

Im Hinblick auf das Resorptionsvermögen sind drei funktionell verschiedenwertige Epidermisschichten zu unterscheiden: die tote Hornschicht, dann die aus lebenden, aber nicht mehr teilungsfähigen Zellen bestehenden Mittellagen und endlich die in fortwährender Proliferation begriffene tiefste Keimschicht.

Für das aus abgestorbenen Zellen bestehende Stratum corneum können, wie oben ausgeführt, die Resorptionsgesetze keine Geltung haben; seine Durchlässigkeit war empirisch zu ermitteln. Es zeigt sich, daß die stark ausgetrockneten Lamellen eine nicht unerhebliche Quellungsfähigkeit für Wasser besitzen. Nun ist zwar bei den Säugern die Oberfläche der Epidermis von dem Hauttalge überzogen, ja die Hornschicht imbibiert sich mehr oder minder mit demselben; weil der Talg indes nur zum geringsten Teile aus Neutralfett, sondern zumeist aus hydrophilen ätherlöslichen Stoffen besteht, so wird das Quellungsvermögen durch ihn nicht

aufgehoben. Mit dem eindringenden Wasser werden auch gelöste Stoffe unterschiedslos, also auch lipoidunlösliche, aufgenommen (Marg. Traube-Mengarini). Daß Lipoidlösungsmittel, z. B. Alkohol, sowie ausgesprochene Fettsubstanzen und in ihnen gelöste Körper ebenfalls Eingang finden, erscheint selbstverständlich.

Diese Betrachtungen dürfen nun keineswegs dazu verleiten, die schützende Fähigkeit der Horndecke als gering anzusehen. Zunächst brauchen alle Quellungs- und Imbibitionsvorgänge Zeit. Wir überzeugen uns täglich, daß durch kurzdauerndes Händewaschen die Haut nur unwesentlich erweicht wird, erst in längerem Bade quillt sie stärker auf. Wenn also die für die Resorption in Betracht kommende Substanz der Hautoberfläche nicht ununterbrochen anliegt, so kann sie bei genügender Dicke der Hornschicht mehr oder minder zurückgehalten werden. Auch die Wachstumsvorrückung der Zellen, welche der Richtung der eindringenden Substanzen entgegengesetzt ist, mag noch ein Hindernis bilden.

Die Mittellagen der Oberhaut, welche verschiedenen anatomischen Schichten (Stratum lucidum, granulosum, germinativum) angehören, sind als besonders bedeutungsvoll für die Resorptionsfähigkeit der Haut anzusehen. Dem Tode entgegengehend, besitzen ihre Zellen nur noch einen geringen Stoffwechsel und sind auf Resorption von Salzen, Zuckern und anderen Kristalloiden nicht mehr angewiesen; ihre Plasmahaut ist daher für bloß wasserlösliche Stoffe wohl dauernd verschlossen. Nach den bisherigen Untersuchungen zu urteilen, ist in dem reichlichen Lipoidgehalt dieser Zellen das in Wasser nicht quellende Cholesterin und seine Abkömmlinge erheblich stärker vertreten als die Lezithine; vielleicht erklärt sich daraus die Tatsache, daß an dieser Epidermisschicht auch der Strom des durch die Horndecke etwa noch bis hieher dringenden Wassers selbst aufgehalten wird. In der Wasserundurchlässigkeit der Warmblüterhaut liegt der charakteristische funktionelle Unterschied gegenüber der Haut der Poikilothermen.

Somit kommen wir zu dem Schlusse, daß bei den eigenwarmen Tieren nur gleichzeitig wasser- und fett-(cholesterin ?-)lösliche Stoffe Aussicht haben, durch die Haut auf dem Resorptionsweg in den Körper einzudringen. Schwenkenbecher hat in zusammenfassender literarischer und experimenteller Bearbeitung die sichere Tatsachengrundlage für das Bestehen dieses Satzes gegeben; aber vor ihm hatte ihn schon Filehne auf Grund theoretischer Überlegungen ausgesprochen.

Der auf die Mittellagen folgenden Mitosenschicht des Stratum germinativum kommt für die Permeabilität der Haut keine Bedeutung mehr zu. Die jungen, wachsenden Zellen müssen sich im Zustande aktiver Resorptionsfähigkeit befinden und nehmen sicherlich auch Mineralsalze usw. auf; da sie indessen bereits hinter dem schützenden Wall der mittleren Schichten liegen, so spielt ihr Verhalten für das Resorptionsvermögen der Haut im ganzen keine Rolle mehr.

Einer kurzen Betrachtung bedürfen noch die Ausführungsgänge der Schweiß- und Talgdrüsen sowie die Haarbälge, weil die Möglichkeit besteht, daß in dieselben bei Einreibungsprozeduren die zur Resorption bestimmten Substanzen eingepreßt werden. Als Besonderheit ist

hier das Fehlen der Hornschicht zu vermerken; die Stoffe kommen in unmittelbare Berührung mit Zellen, welche sich in ihrem Ernährungsbedürfnis und also auch in ihrem resorptiven Verhalten wohl mit denjenigen der Epidermis-Mittellagen vergleichen lassen. Damit sprechen wir aus, daß wir bei der Resorption durch die in Rede stehenden Einstülpungen der Epidermis jedenfalls keine qualitative Verschiedenheit erwarten dürfen.

Haben die resorptionsbefähigten Stoffe die ganze Dicke der Oberhaut, Zelle für Zelle, durchmessen, so werden sie schließlich von den Lymphbahnen des Coriums aufgenommen und dem allgemeinen Säftestrom zugeführt. Schwenkenbecher macht allerdings darauf aufmerksam, daß der Lymphstrom schon zwischen den Zellen der von uns als „Mittellagen" bezeichneten Epidermisschichten fließt, und deshalb auch ein interzellularer Übertritt von (natürlich auch lipoidunlöslichen) Substanzen in die Lymphe möglich ist, besonders wenn Massage hinzutritt; tatsächliche Beweise für dieses Geschehen bringt er nicht. Von manchen Autoren, z. B. Österlen, ist auch behauptet worden, daß durch kleinste Hornhautrisse, wie sie durch energische Massage ja wohl zustande kommen können, sogar feste Substanzpartikel in die Zwischenzellenräume eingepreßt werden, und so in den Kreislauf gelangen; indessen wird von anderen, wie Rindfleisch, das Vorkommen dieses Resorptionsmodus auf Grund sorgfältiger Untersuchungen bestritten. In Ermangelung zweifelsfreier Befunde soll deshalb der interzellulare Resorptionsweg, für welchen die ermittelten qualitativen Gesetze keine Geltung hätten, aus den weiteren Erörterungen ausgeschaltet bleiben.

Indem wir das Ergebnis unserer bisherigen Betrachtungen auf das Problem der Hautpermeabilität für Blei und Quecksilber anwenden, vereinfacht sich dieses zu der Frage: Gibt es Salzverbindungen dieser Metalle, welche sowohl wasser- als auch fettlöslich sind? Die Antwort ist schnell gegeben. Vom Blei kennen wir allein die fettsauren Salze, vom Quecksilber außer diesen noch das Chlorid, welche dieser Forderung entsprechen. Das ölsaure Blei (Bleipflaster) ist mit Fetten in allen Verhältnissen mischbar, in Wasser löst es sich nur im Verhältnis 1:750 (nach eigener Bestimmung); sein Teilungskoeffizient $\frac{\text{Fett}}{\text{Wasser}}$ ist demnach außerordentlich hoch. Ganz ähnlich verhält sich fettsaures Quecksilber. Beim Sublimat ist der Teilungskoeffizient wesentlich kleiner, aber die Fettlöslichkeit immer noch so erheblich, daß einer Aufnahme ins Zellinnere nichts im Wege stehen kann. Es ist nun keineswegs nötig, daß die Metalle von vornherein in dieser resorptionsbefähigten Form auf die Haut aufgebracht werden. Beim Zusammentreffen mit dem aus Neutralfetten und anderen Fettsäureestern bestehenden Hauttalg werden auch die bloßen Oxyde eine Verseifung herbeiführen und zum Teil in fettsaure Salze übergehen. Vielleicht, wenn auch sicher in geringerem Maße, findet sogar eine Umsetzung anderer Salze der Metalle zu Fettseifen statt. Ja es erscheint gar nicht ausgeschlossen, daß die feinzerstäubten Metalle selbst mit Hilfe des Luftsauerstoffes, den sie vermöge ihrer großen Oberfläche reichlich adsorbieren (es wird übrigens auch den physiologischen Drüsensekreten

eine oxydierende Fähigkeit zugeschrieben, vgl. Bettmann, S. 35), in die resorptionsfähige Form fettsaurer Salze übergeführt werden.

Und trotz alledem ist mit diesen Feststellungen die Frage, ob die fettlöslichen Blei- und Quecksilbersalze nun auch wirklich die ganze Dicke der Oberhaut zu durchdringen vermögen, noch keineswegs beantwortet. Es tritt hier eine besondere Komplikation hinzu, welche ihren Grund in dem Salzcharakter der fraglichen Verbindungen hat. Fettlöslich ist eben nur das nichtdissoziierte Salz; dieses allein vermag die Plasmahaut zu passieren. In dem wasserhaltigen Zellprotoplasma wird aber eine teilweise Spaltung der Moleküle eintreten und die freien Metallionen Albuminatfällungen erzeugen können, welche ein Weiterwandern des metallischen Anteils verhindern. Diese Gefahr besteht besonders für das Blei, dessen Eiweißverbindungen bedeutend fester und weniger löslich sind als die des Quecksilbers. In welchem Umfange ein solches auswählendes Zurückhalten gerade der Schwermetalle durch die Epidermiszellen stattfindet, läßt sich von vornherein keineswegs beurteilen. Nach der eingehenden theoretischen Aufrollung des ganzen Problems müssen wir also mit einer gewissen Resignation erkennen, daß doch nur der spezielle Versuch über die Tatsächlichkeit und den Grad der Blei- und Quecksilberpermeabilität Aufschluß zu geben vermag. Immerhin sind durch die vorstehenden Betrachtungen wenigstens die Wege für die einzuhaltende Versuchsanordnung gewiesen.

II. Über die Versuchsanordnung von Hautresorptionsversuchen.

Die erste Frage gilt der Wahl des Versuchsobjektes. Vom praktischen Standpunkte aus interessieren natürlich vorwiegend die Verhältnisse am Menschen; indes kann dieser selbst nur in beschränktem Umfange in den Dienst des Experimentes gestellt werden. Bei der Auswahl der Versuchstiere ist nach den Ausführungen des vorhergehenden Abschnittes darauf zu achten, daß die Dicke der Epidermis und ihrer einzelnen Schichten mit den Verhältnissen beim Menschen einigermaßen übereinstimmt. Eine sehr dünne Epidermis kann zu etwas höheren Resorptionswerten führen, während umgekehrt eine dicke und stark verhornte Oberhaut ein größeres Permeabilitätshindernis abgibt als es beim Menschen der Fall ist; qualitative Besonderheiten sind im Resorptionsversuch am warmblütigen Tier gegenüber dem Menschen nach den vorausgegangenen Betrachtungen selbstverständlich nicht zu erwarten. Im allgemeinen werden die gebräuchlichen kleinen und mittelgroßen Experimentaltiere, wie Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Hunde, Tauben, Hühner, dieser Forderung entsprechen; die Dickenunterschiede ihrer Epidermis sind jedenfalls nicht sonderlich erheblicher als die individuellen Schwankungen beim Menschen selbst. Nach dem Vorgange von Vogt und Burckhardt habe ich hauptsächlich mit Katzen gearbeitet, da diese Tiere für solche, zumal länger dauernde, Versuche aus einer Reihe von Gründen besonders gut geeignet sind.

Sie besitzen eine passende Körpergröße, lassen sich unschwer mit Fleischabfällen, z. B. aus dem Schlachthause, füttern, setzen in der Regel

einen festen, vom Urin leicht trennbaren Kot ab und gehen selten an interkurrenten Erkrankungen zugrunde; gegen spezifische Giftwirkungen sind sie nach K. B. Lehmann aber ebenso empfindlich, wenn nicht empfindlicher, als der Mensch. Besonders wertvoll ist auch ihr psychisches Verhalten. Ihr Erinnerungsvermögen hält anscheinend nicht lange an; sie finden sich deshalb rasch in die Gefangenschaft und lassen sich mit einiger Geduld an alle sonstigen Freiheitsbehinderungen, auch der unnatürlichsten Art, gewöhnen. Dabei verraten sie nach einigen anfänglichen Wutausbrüchen keine tieferen Gemütsbewegungen mehr; sie stumpfen bald ab, reagieren dann selbst bei langandauernder Zwangshaltung (wie z. B. in dem am Schlusse dieses Abschnittes besprochenen Resorptionsversuchskasten) auf Kraueln des Kopfes sofort mit behaglichem Schnurren und scheinen ihr ganzes Begehrungsvermögen auf die Befriedigung ihrer Freßlust zu konzentrieren.

Eine Versuchsstörung durch psychische Alteration des Versuchstieres ist also bei Verwendung von Katzen nicht leicht zu befürchten, wenn die Tiere an ihre im Experiment einzunehmende Zwangslage ein bis zwei Wochen lang gewöhnt werden. Diese Dressur hat aber unbedingt zu erfolgen, ihre Unterlassung kann zu den folgenschwersten Fehlresultaten führen.

Bei den Säugetieren ist das dichte Haarkleid Resorptionsversuchen hinderlich; es ergibt sich die Notwendigkeit, eine teilweise Enthaarung vorzunehmen.

Rasieren und chemische Depilation (mit Kalziumhydrosulfid, Strontiumhydrosulfid, Bariumsulfid usw.) schaffen unvermeidlich kleine Schürf- oder Ätzwunden, welchen erst Zeit zum Ausheilen gelassen werden muß, bevor der Resorptionsversuch beginnen darf; dann sind aber die Haare manchmal schon wieder auf 1 mm und darüber gewachsen. Ich habe den Eindruck, daß durch den Reiz dieser Prozeduren der Nachwuchs der Haare besonders beschleunigt würde. Deshalb habe ich mich schließlich darauf beschränkt, den Pelz nur mit Schere und Haarschneidemaschine bis auf ½ mm zu kürzen, worauf sofort (doch nie, ohne daß die Haut auf tatsächliche Intaktheit genau geprüft worden wäre) mit dem Versuch begonnen werden konnte. Die Enthaarung wurde stets am Rücken und den Flanken der Tiere vorgenommen; Fig. 1 zeigt das Bild einer solchen geschorenen Katze.

Nach 4 bis 6 Wochen pflegen die Haare wieder die Länge von 1 cm erreicht zu haben. Dadurch wird praktisch das Ende des Versuches erzwungen, weil die zur Resorption bestimmten Substanzen von der Haut abgehoben werden und sich auch durch Massage ein genügender Kontakt mit der Haut nicht mehr herstellen läßt. Eine neue Schur des verklebten Pelzes ist aber ohne stärkste Gefahr der Verschmutzung des ganzen Tieres nicht mehr durchzuführen. Ich habe einigemale versucht, durch Röntgenbestrahlung den Nachwuchs der Haare zu verzögern. Es gelingt dies auch, aber bei dem steilen Abfall des Katzenrückens nicht in gleichmäßiger Weise. Auch um mich nicht dem Einwand auszusetzen, daß die bestrahlte Haut sich in bezug auf ihr Resorptionsvermögen geändert haben könnte, habe ich schließlich von einem weiteren Verfolg dieser Idee Abstand genommen,

zumal die Bestrahlung der narkotisierten Katzen recht schwierig war und nicht jedes Tier die Prozedur lebend überdauerte. Bei den in dieser Arbeit geschilderten Versuchen hat also keine Röntgenbestrahlung stattgefunden; die Versuchsdauer war infolgedessen zeitlich begrenzt.

Nach der Wahl und entsprechenden Vorbereitung des Versuchsobjektes tritt die Frage nach der zweckmäßigsten Applikation der resorptionsbestimmten Substanz an uns heran. Für Stoffe festen Aggregatzustandes (mit Einschluß des metallischen Quecksilbers) kommen folgende Möglichkeiten in Betracht:

1. Bad: Ein Körperabschnitt wird in eine wässerige Lösung der Substanz eingetaucht.

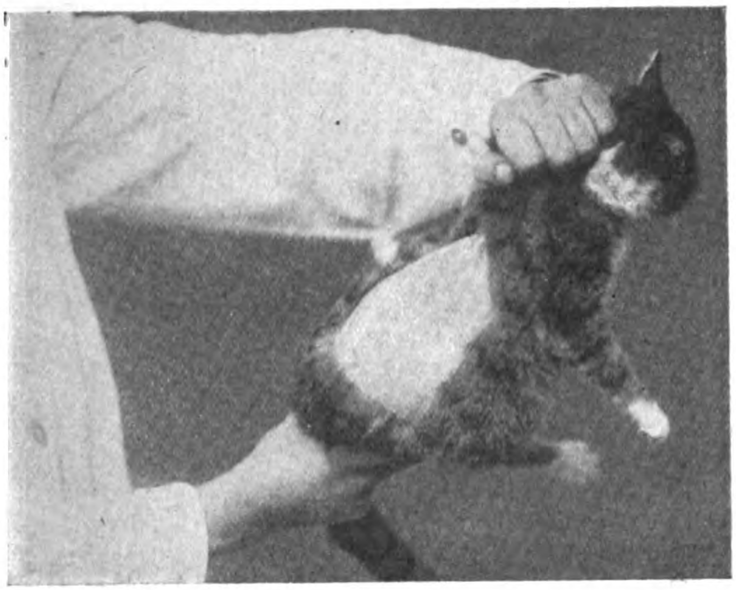


Fig. 1. Bild einer sattelförmig geschorenen Katze.

2. Feuchter Verband: Die Haut wird mit einer Mull- oder Wattelage, welche von der wässerigen Lösung der Substanz durchtränkt ist, bedeckt gehalten.

3. Einpinselung: Die Haut wird mit der in Wasser oder flüchtigen organischen Solventien gelösten Substanz benetzt und das Vehikel zum Verdunsten gebracht.

4. Bestäubung: Die Haut wird mit dem trockenen Substanzpulver bedeckt, welches in diesem Falle meist wohl erst nach Umsetzung mit den Fettsäuren des Hauttalgs resorptionsfähig wird.

5. Salbung: Die Substanz ist in fettigem Medium gelöst oder (in Erwartung einer entsprechenden Umsetzung mit dem Hauttalg oder dem Salbenfette selbst) nur suspendiert, bzw. (beim Quecksilber) emulgiert; die Salbe wird entweder nur aufgetragen oder eingerieben.

Bei schärferem Zusehen vermögen wir die 5 Applikationsweisen einzuteilen in Anwendung wässeriger Lösungen (1, 2) und fettiger Lösungen

(4, 5); denn auch die bloße Bepuderung, z. B. mit Bleioxyd, ist nach der Umsetzung zu fettsaurem Blei und dessen Lösung im Hauttalg einer Bedeckung mit Bleioleat enthaltender Salbenmasse im physiologischen Sinne qualitativ gleichwertig. In der Mitte steht die Bepinselung, insoferne sie zunächst die Verhältnisse des feuchten Verbandes (bei wässeriger Lösung) nachahmt, nach dem Eintrocknen aber den Effekt einer Bestäubung oder Salbung besitzt.

Es handelt sich also um die prinzipielle Frage: Wässeriges oder fettiges Medium? Schon Schwenkenbecher hat sich vor der Ausführung seiner Versuche die Frage vorgelegt und sich für wässerige Lösungen entschieden. Er schreibt: „Derjenige physikalische Vorgang, welcher die Aufnahme von Stoffen durch die Haut beherrscht, ist die Osmose. Denken wir uns den Körper eines Menschen oder eines Tieres in einem Bade, in dem die auf ihre Durchgängigkeit zu prüfenden Stoffe gelöst sind, so haben wir die einfachsten und klarsten Versuchsbedingungen. Dann bildet die Haut die Diffusionsmembran; Badewasser und Blut sind die beiden Lösungen, welche einen osmotischen Ausgleich ihrer Bestandteile eintreten lassen können. Jede andere Anordnung, wie z. B. das Bestreichen und Bepinseln des Körpers mit Lösungen, die Einreibung von Substanzen in Salben, schafft kompliziertere Verhältnisse, welche wir vorderhand noch nicht übersehen können."

Nun zeigt aber ein Blick in die tatsächlichen Verhältnisse des Lebens, daß dort, zum mindesten für unsere Spezialbetrachtungen, die Versuchsbedingungen Schwenkenbechers kaum je gegeben sind. Der Fabrikarbeiter, dessen Gesicht, Hände und Arme mit Bleifarben beschmutzt sind, der Schauspieler und die Schöne, die sich bleihaltiger Schminke bedienen, der Syphilitiker, welcher sich einer Schmierkur unterzieht: sie alle bilden Beispiele fettiger Applikation; ja sogar bei dem Arzt, der Hände und Arme in stark verdünnter wässeriger Sublimatlösung wenige Minuten lang desinfiziert und nach flüchtigem Abtrocknen den Rest der Lösung auf der Haut verdunsten und sich dabei konzentrieren läßt, spielt, was die Gefahr eines Sublimateindringens durch die Epidermis betrifft, die kurzdauernde Waschung selbst wohl nur die geringste Rolle. Weil aber das Ziel dieser Arbeit war, vornehmlich den Zwecken der Praxis zu dienen, so mußte im Gegensatz zu den theoretischen Untersuchungen Schwenkenbechers auch die Applikation in fettigem Medium gewählt werden. Badeversuche mit dem notwendigen Verschluß der Exkretionsöffnungen Anus und Orificium urethrae externum (um Schleimhautresorption auszuschließen) lassen auch eo ipso nur eine nach Stunden zählende Versuchsdauer zu; aber gerade in der Chronizität der Einwirkung war es hier notwendig, die Verhältnisse der Praxis nachzuahmen. Es ergab sich also die Aufgabe, über die besonderen Resorptionsbedingungen bei fettiger Applikation einige Klarheit zu gewinnen, und ich möchte glauben, daß dies nicht so ganz unmöglich ist.

Das fettige Medium durchdringt samt der gelösten Substanz das Stratum corneum und gelangt schließlich an die ersten lebenden Zellen der „Mittellagen", deren Cholesterinhaut ebenfalls noch Lösungsmittel und gelösten Stoff gleichmäßig aufnimmt. Der hinter der Plasmahaut

gelegene, eine wässerige Eiweißgallerte darstellende Zelleib ist jedoch nur mehr für die ja auch wasserlösliche gelöste Substanz, nicht mehr aber für das wasserunlösliche fettige Solvens durchlässig. Wir wollen jene Hautebene, bis zu welcher wasserunlösliche Fettsubstanzen vorzudringen imstande sind, mit „Fettgrenzschicht" bezeichnen, ein Ausdruck, der bei dem sukzessiven Verhornungsprozeß der Epidermiszellen keinen anatomisch genau faßbaren, sondern nur einen physiologischen Begriff darstellt.

Wie aber liegen denn, genau betrachtet, die Verhältnisse bei wässeriger Applikation, bei dem Badeversuch? Auch hier gelangt die Lösung durch die Horndecke hindurch an die „Mittellagen". Auch hier vermag nur die (auch fettlösliche) gelöste Substanz weiter vorzudringen, während das Wasser zurückgehalten wird, dieses allerdings schon an der Außenseite der ersten funktionstüchtigen Plasmahaut. Wir kommen somit zu dem Schlusse, daß „Fettgrenzschicht" und „Wassergrenzschicht" theoretisch nur um die unmeßbar geringe Breite einer Plasmahaut getrennt sind, und im übrigen ganz analoge Verhältnisse vorherrschen.

Es lassen sich diese Verhältnisse im Prinzip wohl am besten durch folgende einfache Vorstellung erläutern. In einem Glase befinden sich eine Wasser- und eine Ölschicht übereinander. Was geschieht, wenn in einer der beiden Flüssigkeiten eine Substanz gelöst ist, für welche auch die andere Flüssigkeit die Eigenschaft eines Lösungsmittels besitzt? Selbstverständlich wird der gelöste Stoff durch Diffusion solange in die Nachbarflüssigkeit übertreten, bis ein Lösungsgleichgewicht erreicht ist, welches dem Teilungskoeffizienten $\frac{\text{Öllöslichkeit}}{\text{Wasserlöslichkeit}}$ entspricht. Der Unterschied der beiden Applikationsweisen projiziert sich auf dieses Vorstellungsschema einfach in der Weise, daß die betreffende Substanz im einen Falle primär in Wasser, im anderen zunächst in Öl gelöst zu denken ist.

Eine derartige Betrachtungsweise vermag wohl zu der Anschauung zu führen, daß auch bei der Anwendung fettiger Lösungen der Übertritt gelöster Stoffe ins Hautgewebe in osmotischen Vorgängen zu suchen ist und demnach zwischen den beiden in Frage stehenden Applikationsweisen ein prinzipieller physiologischer Unterschied nicht besteht.

Doch ist noch zu berücksichtigen, daß die Diffusionsgeschwindigkeit in fettigem Medium infolge dessen höherer Viskosität (die innere Reibung des Olivenöls ist nach Warburg, Experimentalphysik, 87mal so groß als die des Wassers) kleiner ist als in Wasser, und zwar natürlich um so geringer, je konsistenter, je talgartiger die Salbengrundlage ist. Dadurch entsteht die Gefahr, daß der Diffusionsstrom bald ins Stocken gerät, wenn die der „Fettgrenzschicht" benachbarten Salbenpartien ihren verfügbaren Gehalt an gelöster Substanz abgegeben haben und die Nachdiffusion aus der salbengetränkten Hornschicht zu langsam von statten geht. Diesem Übelstand ist aber dadurch abzuhelfen, daß man die Konzentrationsverhältnisse bei fettigem Vehikel wesentlich höher bemißt als in wässeriger Lösung. Infolge der Unmöglichkeit einer hydrolytischen Dissoziation ist bei Salbenanwendung auch eine Schwermetallkonzentration anwendbar, welche in wässeriger Lösung tiefgreifende Verätzungen des

Gewebes nach sich ziehen müßte. Im einzelnen kann selbstverständlich die Konzentration, welche einen dauernden Resorptionseffekt verbürgt, ohne die Haut zu schädigen, für wässerige wie für fettige Lösungen nur durch die Erfahrung ermittelt werden; indes gibt ja die therapeutische Empirie für diese Frage schon reichliche Anhaltspunkte.

Bei der Behandlung der Applikationsweise erübrigt es sich noch, die Frage zu berühren, was eine Einmassierung gegenüber dem einfachen Auflegen oder Aufstreichen für Vorteile hat. Ganz zweifellos wird durch sie die Durchdringung des Stratum corneum wesentlich beschleunigt und erleichtert. Luftbläschen, die sich zwischen Haut und Salbe befinden, werden weggedrückt, die Salbe selbst in alle Winkel und Spalten der Horndecke mechanisch eingepreßt und wohl auch neue kleinste Läsionen geschaffen, in welche die Salbe sofort eindringt. Auch die Haarbälge und Drüsenausführungsgänge werden, soweit der Sekretnachschub es nicht verhindert, von der Salbenmasse erfüllt werden können. Dagegen liegen, wie bereits erwähnt, keine einwandfreien Tatsachen vor, welche eine Beförderung der sich qualitativ anders verhaltenden interzellularen Resorption der tieferen Epithellagen durch die Massage sicherstellten. Wir sind deshalb wohl berechtigt zu sagen: Entscheidend für das perkutane Eindringen in den Körper sind allein die Löslichkeitsverhältnisse der resorptionsbestimmten Substanz; die Massage wird nur eine anfängliche Beschleunigung der Resorption herbeiführen. Es resultiert daraus die Folgerung, daß zwar die therapeutische Medizin, welcher es auf eine möglichst prompte Wirkung ankommt, sich kräftiger Einreibungen zu bedienen hat; daß dagegen bei langdauernder, ununterbrochener Berührung der Salbe mit der resorbierenden Haut eine Steigerung des Resorptionseffektes durch Massage sich nicht ergeben wird. Letzteres scheint aber, wie die unten beschriebenen Versuche zeigen, in der Tat der Fall zu sein.

Der nächste Punkt, welcher bei Anstellung von Hautpermeabilitätsversuchen zu beachten ist, besteht in dem sicheren Ausschluß einer Aufnahme der zum Durchtritt bestimmten Substanz durch andere Resorptionswege.

Um eine Aufnahme per os zu verhindern, welche sowohl durch direktes Belecken der eingeriebenen Hautstelle möglich wäre, als auch mittelbar durch Beschmutzung der Pfoten bei Kratzversuchen, überhaupt durch Verunreinigung des Tieres und seiner Umgebung mit der aufgestrichenen Salbenmasse und nachheriges Lecken zu erfolgen vermöchte, sind zwei Wege gangbar:

1. Man setzt den ganzen, mit Tüchern umwickelten Körper des Tieres in einen geschlossenen Kasten, aus welchem nur der Kopf herausragt (Abb. s. bei K. B. Lehmann, S. 137).

2. Man legt über die bestrichene Hautstelle einen dichtschließenden, undurchdringlichen Verband, welcher die Bewegungsfreiheit der Tiere (oder auch des Menschen) nicht vollkommen aufhebt und vor allem auch ein unbehindertes Absetzen der Exkrete ermöglicht.

Dieser letztere Weg ist bei länger dauernden Versuchen geboten, zumal wenn es nicht nur auf Beobachtung klinischer Vergiftungssymptome und den pathologisch-anatomischen Befund ankommt, sondern die Aus-

scheidung der evtl. durch die Haut resorbierten Substanz in Harn und Kot quantitativ verfolgt werden soll; hierbei muß natürlich auch eine unmittelbare Verunreinigung dieser Ausscheidung mit Salbenbestandteilen vermieden werden. Solcher „Verbandversuche", an Mensch und Tier ausgeführt, sind bereits eine größere Anzahl in der Literatur beschrieben; indes besteht über die zweckmäßigste Art ihrer Anstellung noch keine Sicherheit, so daß ich auf die allgemeine Methodik derselben mit einigen Worten eingehen muß.

Es handelt sich vor allem um die Frage: Darf der Verband völlig wasserdicht sein oder nicht? Juliusberg glaubt, daß unter einem impermeablen Verband die Haut Veränderungen ihrer Funktion erleidet, ohne daß es zu einem sichtbaren pathologischen Zustand zu kommen braucht. Schon eine dicke Wattelage sei nicht mehr als gleichgültig für die Hautfunktion aufzufassen. Demgegenüber ist es wohl an der Zeit, auf das Übertriebene solcher Ansichten, die in der früheren Überschätzung der Bedeutung der Hornschicht für das resorptive Verhalten der Hautwurzeln, hinzuweisen. Es ist denkbar, daß bei absolut wasserdichtem Abschluß des Verbandes oder bei transpirierender Haut eine Auflockerung des Stratum corneum eintritt, welche das Vordringen der Salbe begünstigt und die Permeabilitätsgröße erhöht. Eine Veränderung der Hautfunktion im Sinne einer qualitativen Umstimmung ist jedoch nach den einführenden Erörterungen auch hierbei für gewöhnlich nicht anzunehmen; tiefergreifende Mazerationen aber, welche eine solche zur Folge haben könnten, indem sie den Schutzwall der „Mittellagen" zerstörten, würden auf jeden Fall bemerkt werden und zum Verwerfen des Versuchsresultates führen. Nun ist indes nach meinen Erfahrungen in praxi die Gefahr einer solchen Epithelschädigung recht gering. So dicht ist wohl auch der sorgsamst angelegte Verband nicht, daß nicht die kleinen Wasserdampfmengen, welche durch die salbenbedeckte Haut perspirieren, durch kapilläre Maschen und Spalten entweichen könnten; und zu reichlicher Schweißsekretion geneigte Hautpartien braucht man ja nicht gerade zum Versuch zu wählen. Ich selbst habe mehrere Wochen hindurch ohne besonders lästige Gefühle einen Billrothbattistverband um den einen Unterschenkel getragen, dessen Ränder obendrein mit Collodium an die Haut angeleimt waren; nach seiner Entfernung schilferten nur die obersten Hornlamellen etwas ab, die Sensibilität war in der ursprünglichen Feinheit erhalten. Bei den Katzen, deren Körperhaut ja nahezu schweißdrüsenlos ist, konnte ich ebenfalls niemals auffällige Mazerationen, auch nicht mikroskopisch, entdecken.

Ich bin auf diese Frage etwas ausführlich eingegangen, weil nach meiner Überzeugung nur eine wasserdichte Verbandeinlage bei Dauerversuchen die Gewähr bieten kann, daß in der Zeit, in welcher das Tier in seinem Käfig ohne Aufsicht ist — und das ist doch zum mindesten die Nacht über der Fall — eine Herauslaugung der resorptionsbestimmten Substanz durch Beschmutzung des Verbandes mit Urin oder flüssiger Nahrung nicht stattfindet. Allein diese Vorsicht wird zu einer Farce, wenn nicht gleichzeitig eine entsprechende Sicherung der Verbandränder vorgenommen wird. Denn dort, am Hals- und Schwanzende des Verbandes,

besteht der besonders zu fürchtende Verdacht, daß zwischen Haut und innerster Verbandschicht Salbenpartikel nach außen gelangen. Die große Biegsamkeit ihrer Wirbelsäule befähigt gerade Katzen gut dazu, diesen Spalt zu leichtem Klaffen zu bringen. Besonders gefährlich sind psychische Exaltationszustände, in welchen die Tiere die tollsten Verrenkungen ihres Körpers vornehmen; deswegen also dürfen, um es zu wiederholen, nur an das Tragen von Verbänden gewohnte Tiere zu den Versuchen benutzt werden. Von den übelsten Folgen kann es auch sein, wenn die Tiere unter dem Verbande allmählich herausmagern; es ist deshalb nötig, fortlaufend zu kontrollieren, ob bei gewöhnlicher Haltung des Rumpfes die Verbandränder noch gut schließen, und gegebenenfalls rechtzeitig die Bindentouren straffer anzuziehen. Dabei muß man anderseits daran denken, daß zu enge Wickelung Atmung und Verdauung beeinträchtigt und zu

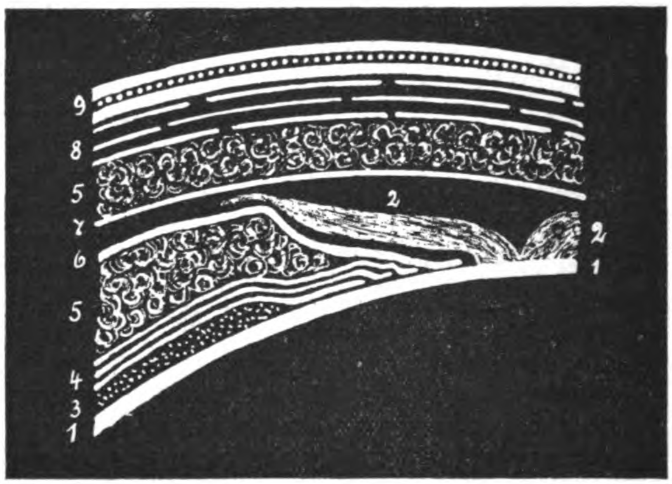


Fig. 2. Schichten eines Bleisalbenverbandes an der Katze (schematisch).

1 = Haut. 4 = Kompresse. 7 = Gelatinefolie.
2 = Haare. 5 = Watte. 8 = Mullbindentouren.
3 = Salbe. 6 = Billrothbattist. 9 = Gefütterter Mantel.

weiterer Abmagerung führt, welche dann fälschlicherweise auf Rechnung der Resorption gesetzt wird. Bei meinen Blei-Versuchskatzen habe ich eine besonders intensive Randdichtung dadurch erzielt, daß ich über die Billrothbattistschicht die Haare ringsherum zurückschlug und in dieser Lage durch Kollodiumverklebung fixierte (s. Fig. 2). Den besten Außenabschluß des Verbandes bildet ein mit Löchern zum Durchtritt der Vorderpfoten versehenes, am Rücken zuschnürbares Mäntelchen. Ich habe solche in verschiedenen Größen aus einer inneren Wollstoff- und äußeren Wachstuchschicht herstellen lassen, zwischen welche ein dünnes Eisendrahtgitter zur Versteifung eingenäht wurde; so konnte man den Katzen gleichzeitig das gefährliche „Buckeln" stark erschweren.

Eine orale Aufnahme der auf ihre Hautdurchgängigkeit zu prüfenden Substanz ist indes nicht nur durch mangelhaften Abschluß des Ver-

bandes, sondern unter Umständen auch durch fernerliegende Zufälligkeiten möglich.

Die Emaillierung blecherner Futternäpfe enthält Blei; deshalb fütterte ich stets aus reinen Porzellangefäßen, welche, wie Versuche zeigten, kein Blei abgeben. Tierische Leber, in welcher stets Metallspuren vorhanden sein können, wurde während der eigentlichen Versuchdauer von mir nicht verabreicht. Auch in die menschliche Kost können in unvorhergesehener Weise enorme Bleimengen geraten, wie die Schilderung des an mir vorgenommenen Selbstversuchs zeigen wird.

Wesentlich für das Gelingen von Verbandversuchen an Tieren ist auch der Käfig, in dem letztere gehalten werden. Nur Einzelkäfige dürfen verwendet werden, welche einen sicheren Abfluß des Urins sowie eine leichte Entfernung des abgesetzten Kotes gestatten.

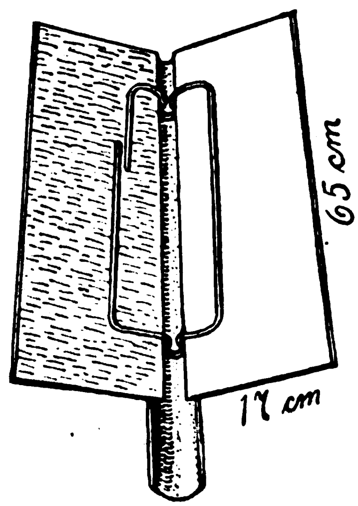


Fig. 3. Glasteile des Urinablaufs.

Ich selbst habe keine Metall- sondern Holzkäfige verwendet, um nicht Gefahr zu laufen, in die abgekratzten Kotmassen bleihaltige Emailsplitter, Bleilotpartikel oder amalgamierte Zinkblechschabsel zu bekommen. Die Decke und drei Seiten sind aus massivem Holz; nur die nach vorn sich öffnende Türe besteht aus Holzstäben. Der Lattenboden (von der Größe 60 × 35 cm) ist herausnehmbar; darunter befindet sich der Urinablauf, dessen mit dem Harn in Berührung kommende Flächen aus Glas bestehen. Er läßt sich zur Reinigung gleichfalls herausziehen und die Glasteile — 2 rechteckige Platten, 1 Mittelrinne, 1 aus einem langen Glasstabe zurechtgebogene Spreizvorrichtung — sind einzeln abhebbar. In Fig. 3 sind diese Glasteile in ihrer gegenseitigen Lage, aber ohne den Holzrahmen, auf dem sie aufliegen, gezeichnet. Dessen Querschnitt, sowie die Art der Einfügung in den Käfig ist aus den Fig. 4 und 5 des unten beschriebenen Quecksilber-Resorptionskastens zu ersehen, wo nur die Größenmaße andere sind. Aus der Mittelrinne fließt der Urin in ein starkwandiges Becherglas von fast 1 l Fassungsvermögen, in welchem sich ein großer Thymolkristall

zur Verhinderung der Zersetzung befindet. Fester Kot bleibt gewöhnlich auf dem Lattenboden liegen, halbflüssiger fließt zum Teil hinunter auf den Urinablauf, wird aber nur ganz selten in das Sammelgefäß mit fortgerissen, so daß die Trennung von Kot und Urin fast ausnahmslos ohne Mühe gelingt.

Ich möchte die Schilderung dieser unkomplizierten Verbandversuche nicht beschließen, ohne die Wichtigkeit hervorgehoben zu haben, die der ununterbrochenen Beobachtung der Tiere zuzumessen ist. Nur wenn der Experimentator selbst täglich und stündlich die Tiere vor Augen hat, ist er in der Lage, sich über ihren Zustand ein richtiges Bild zu machen. Ich habe deshalb die Unannehmlichkeiten, die manchmal aus dem Geschrei der Katzen und dem Geruch ihres frisch entleerten Kotes erwuchsen, in Kauf genommen und die ganzen Versuche in meinem gewöhnlichen Arbeitsraum durchgeführt.

Eine erhebliche Erschwerung des Experimentes kommt zustande, wenn der zur Salbe verarbeitete, resorptionsbestimmte Körper schon bei gewöhnlichen Temperaturen flüchtig ist, wofür die graue Quecksilbersalbe das beste Beispiel abgibt. Hier gilt es noch, durch sicher wirkende Maßnahmen die Gefahr einer Inhalation der betreffenden Substanz, in diesem Falle also der Quecksilberdämpfe, auszuschließen.

Nun wird ja ein wasserdichter Verband, wie er in Fig. 2 abgebildet ist, vermutlich das Entweichen von Dämpfen stark erschweren, wenngleich die durch ihn bedingte Erwärmung der Haut und der Salbenmasse die Tension etwas erhöhen muß. Bei länger dauernden Versuchen kann indessen eine sichere Gewähr nicht übernommen werden, daß nicht, zumal an den Verbandrändern, kleine Dampfmengen in die Außenluft und dann schließlich auch in die Lunge gelangen. Es tritt hinzu, daß der Verband während des Aufstreichens oder gar während des Einreibens der Salbe, wo die Verdampfungsbedingungen besonders günstig sind, als Schutz überhaupt nicht in Betracht kommen kann. Fleischer hat deshalb seine Versuchsperson während der Einreibeprozedur durch eine Waldenburgsche Ventilmaske Luft aus dem Freien atmen, Juliusberg eine Art Gasmaske benützen lassen, welche die gefährlichen Dämpfe zurückhielt. In Tierversuchen hat sich letzterer sogar der Tracheotomie bedient, um während der ganzen Versuchsdauer durch eine Rohrleitung reine Luft einatmen lassen zu lönnen. Für Dauerversuche an Tieren, wie ich sie beabsichtigte, war keiner dieser Wege gangbar; dichtschließende Masken sind Tieren ja wohl überhaupt nicht recht anzupassen, werden auch stets wieder abgerissen werden, und die Tracheotomie-Atmung mit der dazu nötigen vollkommenen Fesselung wird im höchsten Falle ein paar Tage lang ertragen.

Dagegen schien mir eine Umkehrung der Verhältnisse des Lehmannschen Versuchskastens (s. S. 188) der weiteren gedanklichen Verfolgung wert zu sein, derart nämlich, daß der Kopf des Tieres in ein geschlossenes, von reiner Luft erfülltes Gehäuse eingezwängt würde, während der ganze Körper für alle vorzunehmenden Prozeduren frei zugänglich wäre.

Für die praktische Durchführung dieser Idee kam mir eine von Geheimrat Lehmann und Prof. Lang konstruierte Apparatur gut zustatten,

welche im Hygienischen Institut seit einigen Jahren zu quantitativen Studien über Staubinhalation in Verwendung steht. Ohne daß ich mich in Details verlieren will (die zumeist aus den Fig. 4 und 5 ersehen werden können), sei die Vorrichtung, welches das schließliche Ergebnis der Überlegung war, beschrieben.

Der wesentlichste Teil ist der zentrale Atmungsraum (*A*), dessen kurze, sich gegenüberliegende Seitenwände kreisförmige Löcher zum Durchstecken der Katzenköpfe besitzen. Mittels Flügelschrauben können vor diese Öffnungen halbkreisförmig ausgesägte Bretterpaare (*B*) aufgesetzt und die ersteren dadurch konzentrisch verengt werden. Auf diese Weise wird der Hals der Tiere wie in einem spanischen Kragen gefaßt und der Kopf am Zurückziehen gehindert. Die Luftzufuhr geschieht durch eine die

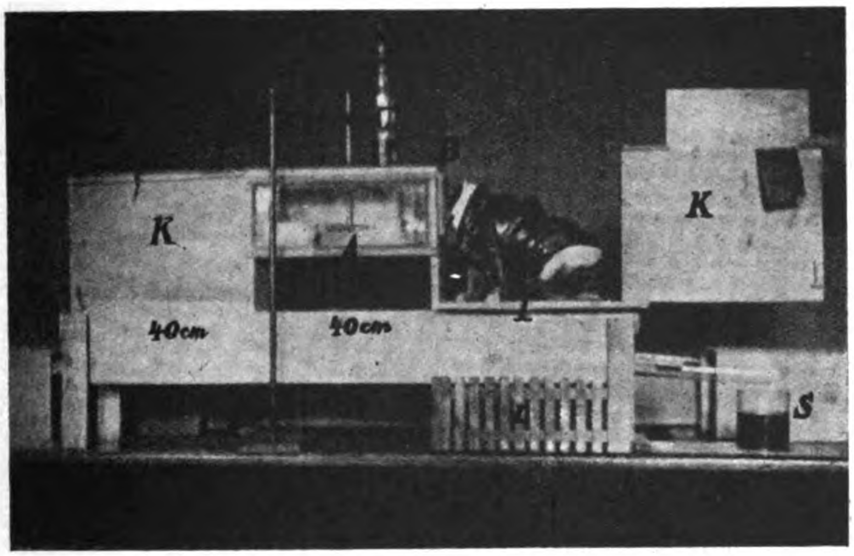


Fig. 4. Hautresorptions-Versuchskäfig für flüchtige Substanzen.

Decke durchbohrende Rohrleitung; mit einer Motorpumpe werden minutlich 2 bis 3 l reiner (aus dem Freien kommender), leicht vorgewärmter und in konzentrierter Schwefelsäure getrockneter Luft den Tieren unmittelbar vor die Nase geblasen. (Daß keine Schwefelsäuretröpfchen mitgerissen werden, davon überzeugte ich mich mehrfach durch Aziditätsprüfung des T-förmigen Luftausstoßrohres und der Kastenwände.) Zum Entweichen bleibt der Luft für gewöhnlich kein anderer Weg als der enge Spalt zwischen den Katzenhälsen und dem „spanischen Kragen". Derart wird ein Eindringen von Außenluft in den Kasten so gut wie unmöglich gemacht und jede weitere Dichtung des Kragens, welche die Tiere gewiß sehr schwer ertragen würden, kann unterbleiben. Die Vorderwand des Raumes besteht aus einer eingekitteten Glasplatte, durch die abschraubbare Rückwand erfolgt die Fütterung.

Die Tiere stehen auf dem herausnehmbaren Lattenboden (*L*), auf welchem der abgesetzte Kot im allgemeinen liegen bleibt, während der

Harn zum Urinablauf (U) hinunterfließt (vgl. auch Fig. 3), der ihn zum Sammelgefäß (S) fortleitet. (Letzteres ist für gewöhnlich von einem Schutzkasten überdeckt.) Wird der Lattenboden (L) zur Reinigung entfernt, so kommt das Tier für kurze Zeit auf das Interimsbrett I zu stehen. Das gleiche geschieht bei Einreibungen, wobei die ganze Unterlage noch durch eine breite Lage Packpapier vor aller Verunreinigung geschützt wird.

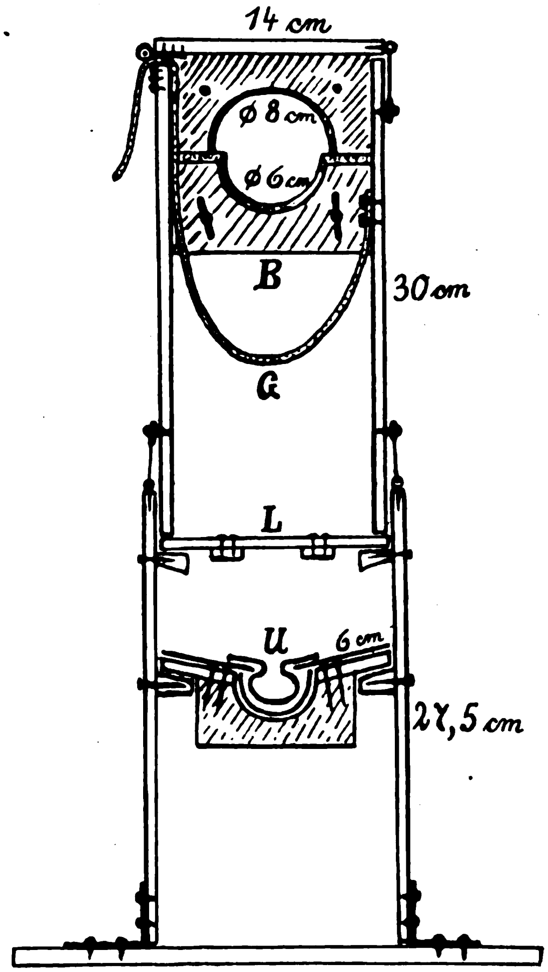


Fig. 5. Projektionsquerschnitt durch den linken Seitenkasten (S) mit Durchsicht auf den „spanischen Kragen“.
(Die schraffierten Teile sind in Aufsicht gesehen. Das obere ausgesägte Brettchen (*B*) ist entfernt und dahinter die Seitenwand des Atmungsraumes (*A*) mit der größeren Kreisöffnung sichtbar.)

Die beiden Seitenkästen (K) können über die Tierkörper geschoben und durch Klavierhaken unverrückbar festgehalten werden; sie verhindern alle gewaltsamen Befreiungsversuche, welche den Tieren nur Schmerzen verursachen und den Versuch beeinträchtigen würden. Sie ermöglichen es weiterhin, den Rumpf der Katzen in einer Gürtelschlinge (G) leicht

aufzuhängen. (Um den Gürtel unter den Tieren durchziehen zu können, ist ein Teil der Oberwand der Seitenkästen (K) als Scharnierdeckel gestaltet; die Fixierung des freien Gürtelendes geschieht durch bloßes Einklemmen unter die Scharnierseite des geschlossenen Deckels.) Dadurch wird eine Beschmutzung des Verbandes mit Urin und Kot sicher ausgeschaltet, anderseits den Tieren Gelegenheit gegeben, die Beine zu entlasten und wie in einem Tragbande auszuruhen.

Wie bereits hervorgehoben, gelingt es, was zunächst fast unmöglich scheinen möchte, Katzen wochenlang ununterbrochen in diesem Käfige eingesperrt zu halten, ohne daß ihre Freßlust nachzulassen braucht. Die Exkrete können mit leichter Mühe quantitativ gesammelt werden. Eine direkte Verunreinigung derselben mit Salbenmasse kann durch einen entsprechend dichten Verband in Verbindung mit der Gürtelschlinge (G) vermieden werden, orale Aufnahme von Salbenbestandteilen ist von vornherein ausgeschlossen. Einströmen von Außenluft in den Atmungsraum ist in höchstem Maße unwahrscheinlich; völlige Sicherheit über den Ausschluß einer Inhalation kann dadurch gewonnen werden, daß man, wie ich es getan habe, nur die eine Katze mit Einreibungen behandelt und die andere als Kontrolltier verwendet.

Es erübrigt noch, mit einigen Worten auf die Sektionstechnik einzugehen, die nach Beendigung des Versuchs und Tötung des Experimentaltieres Platz greifen muß. Hier ist die Gefahr, daß durch Beschmutzung der Hände und Instrumente mit der die Haut bedeckenden Salbenmasse das Metall, auf welches sich die folgende chemische Analyse erstreckt, in die inneren Organe verschleppt und somit eine Erhöhung der Metallspeicherung im Körper vorgetäuscht würde, durch besondere Vorsichtsmaßregeln zu vermeiden.

Ich bin stets so vorgegangen: Das Tier wurde auf eine Unterlage von Packpapier, Rücken nach unten, flach ausgespannt, die Haut durch einen Y-förmigen Schnitt vom Halse bis zur Symphyse und von da beiderseits bis zum Sprunggelenk durchtrennt. Dann wurde der Tierkörper in toto aus dem Fell, dessen Haarseite von einem Gehilfen stets nach abwärts gedrückt wurde, herauspräpariert, wobei der ganze Schultergürtel bei dem Balge verblieb, und endlich die Unterschenkel und die Haut des Halses durchschnitten. Der von der Haut — mit Ausnahme derjenigen des Kopfes — befreite Körper konnte jetzt für sich allein auf einem Sezierbrett gefahrlos geöffnet werden.

Damit sind wir mit der Besprechung der Versuchsanordnung zu Ende gekommen. Bevor jedoch die von mir ausgeführten Versuche selbst geschildert werden können, ist es notwendig, die eingeschlagene Methodik der quantitativen Blei- und Quecksilberanalyse der Betrachtung zu unterziehen.

III. Gang der chemischen Analyse.

1. Mineralisierung.

Vorbedingung jeder Isolierung von Metallen aus Teilen oder Exkreten lebendiger Organismen ist die Zerstörung organischer Bindungen und die Überführung der Metalle in die Ionenform. Am radikalsten und mit den

geringsten Kosten geschieht dies durch die Verbrennung; man wird sich derselben stets bedienen, wenn die Gefahr einer Verflüchtigung des Metalles nicht vorliegt.

Beim Blei ist, wie jahrelange Untersuchungen im Hygienischen Institut und auch meine eigenen Vorversuche wieder gezeigt haben, ein Verlust nicht zu befürchten, wenn die Substanz vor der Verbrennung mit Schwefelsäure durchfeuchtet und die Verkohlung bei kleiner Flamme vorgenommen wird; in die verkohlte Masse gibt man dann noch ein wenig konz. Schwefelsäure und kann nun die Temperatur langsam steigern, bis eine hellgraue, kohlearme Asche erhalten wird. Nur bei achtlosem Arbeiten kann es vorkommen, daß Bleiverbindungen durch die Wirkung der feinverteilten Kohle zu elementarem Metall reduziert werden und letzteres verdampft (Siedepunkt 1470° C).

Anders beim Quecksilber, dessen Verbindungen bei Rotglut sämtlich zersetzt werden und das Quecksilber als metallischen Dampf entweichen lassen, wenn sie nicht schon vorher in toto fortsublimieren. Hier muß die Sprengung der organischen Bindungen auf feuchtem Wege erfolgen. Von den Verfahren, welche zu diesem Zwecke allgemeiner gebräuchlich sind, lassen sich für größere Substanzmengen nur zwei verwenden: die Chlorierungsmethode mit Kaliumchlorat in salzsaurer Lösung nach Fresenius-Babo und die Säuregemischveraschung nach Neumann. Auf die letztere mußte wegen des durch die Kriegsverhältnisse bedingten Mangels an konz. Salpetersäure verzichtet werden, obgleich sie ein von organischer Substanz vollkommen freies Endprodukt liefert und darum den Vorzug vor dem Chlorierungsverfahren verdient. Die Gefahr eines Absublimierens von Merkurichlorid ist bei letzterem, wie mich einige in offener Porzellanschale vorgenommene Probeversuche lehrten, nicht erheblich (10% Verlust bei 5stündiger Digerierung); man nimmt ja wohl an, daß das Quecksilber in der Lösung größtenteils überhaupt nicht in der Form des Sublimats, sondern in der des bei Siedetemperatur unflüchtigen komplexen Kaliumquecksilberchlorids enthalten ist. Immerhin wird man im allgemeinen die Chlorierung im Rundkolben mit aufgesetztem Kühlrohr vor sich gehen lassen.

2. Bleibestimmung.

Prinzip: Aus der essigsauren Lösung der Asche wird das Blei durch H_2S gefällt; ein vorheriger Zusatz von Cu-Salz zur Lösung (nach G. Meillère) bewirkt, daß auch die kleinsten Bleispuren mit dem reichlich ausfallenden CuS mitgerissen werden. Lösung des Niederschlags in Salpetersäure, Ersatz derselben durch konz. H_2SO_4. Das abfiltrierte $PbSO_4$ wird in Ammonazetat gelöst und das Blei aus dieser Lösung als Chromat gefällt. Dieses kann in Anlehnung an das Verfahren von Beck, Löwe und Stegmüller jodometrisch bestimmt werden.

Ausführung: Organe und Kot von Tieren werden in einer Schale aus Porzellan (oder immer besser aus geschmolzenem Quarz) mit so viel ccm 25proz. Schwefelsäure übergossen, als ihr Gewicht in Grammen beträgt, einige Tage stehen gelassen, bis alles zunderartig erweicht ist, und

dann zu einem Brei verrührt. Menschliche Faeces werden auf eine mit weißem Papier überdeckte flache Porzellanschale (35 × 25 cm) entleert und mit einem Porzellanspatel zu dünner Schicht ausgestrichen, dann im Warmluftstrom (Faust-Heimscher Apparat oder einfacher Fön, der in eine mit Abzugsrohr versehene Kiste eingebaut wird) 3 bis 5 h lang getrocknet, mitsamt der Papierunterlage in Streifen zerschnitten und in einer Porzellanschale in so viel 25proz. Schwefelsäure eingeweicht, als der dritte Teil des frischen Kotgewichtes in Grammen betrug. Urin wird in einer Porzellanschale mit 2 bis 3 Volumprozent konz. Schwefelsäure versetzt und auf dem Wasserbad bis zur Sirupdicke eingedampft.

Die Schalen werden dann zunächst auf dem Drahtnetz, später über kleiner freier Flamme erwärmt und der Inhalt, wie oben beschrieben, zu Asche verbrannt. Diese wird mit verdünnter Salpetersäure digeriert, filtriert und der noch etwas Kohle enthaltende Rückstand nach neuerlicher Befeuchtung mit Schwefelsäure in einem kleinen Quarzschälchen völlig verascht. Dann wird mit etwas warmem Königswasser aufgenommen, nach dem Verdünnen filtriert und der Rückstand — sofern es sich nicht nur um Spuren handelt — nach dem Verbrennen des Filters im Porzellanschmelztiegel mit der etwa sechsfachen Menge Pottasche-Sodagemisch geschmolzen, die Schmelze in verdünnter warmer Salpetersäure gelöst und zu den vereinigten Filtraten gegeben.

Nun fügt man in der Hitze konz. (50proz.) Ammonazetatlösung in starkem Überschusse hinzu (Kontrolle mit Kongopapier!) wobei sich ein großer Teil des gelösten Kalkes wieder ausscheidet, und erhält 10 min im Kochen, filtriert dann durch ein mittelgroßes Faltenfilter und wäscht 3 bis 4mal mit verdünnter heißer Ammonazetatlösung nach, engt endlich die Flüssigkeit auf ca. 200 ccm ein. Fällt im Laufe der nächsten 24 h noch etwas Gips aus, so hält man ihn in einem kleinen quantitativen Filter zurück. Nach Zugabe von 1 ccm einer 4proz. Kupferchloridlösung (= 15 mg Cu) leitet man 1 h lang Schwefelwasserstoff ein, läßt bis zum nächsten Tage absitzen und filtriert unter gründlichem Nachwaschen; das Waschwasser darf mit Ammonoxalat keine Kalkreaktion mehr geben. Filter samt Inhalt wirft man in verdünnte Salpetersäure, löst die Sulfide in der Hitze, verdünnt mit Wasser und filtriert von Papierfasern und ausgeschiedenem Schwefel ab. Das Filtrat wird in einen Kjeldahlkolben von 200 ccm Fassungsvermögen gegeben und 10 ccm konz. Schwefelsäure nachgegossen. Der Kolben wird bei anfänglich nicht zu großer Flamme auf dem Sandbade erhitzt. Um die Einengung der Flüssigkeit zu beschleunigen und gleichzeitig das gefährliche Stoßen zu verhindern, leitet man durch ein in den Kolben eingehängtes Glasrohr einen kräftigen Gebläseluftstrom unmittelbar über den Spiegel der Lösung. Wenn dicke Schwefelsäurenebel durch den Kolbenhals entweichen, ist die Vertreibung der Salpetersäure beendet.

Nach dem Erkalten fügt man langsam unter Umschwenken 10 ccm Wasser hinzu und erhitzt vorsichtig über freier Flamme, um ev. ausgefallene Spuren von wasserfreiem Ferrisulfat (die eine Bleifällung vortäuschen könnten) in Lösung zu bringen; verdampftes Wasser ist wieder zu ergänzen. Jetzt läßt man noch 15 ccm 96proz. Alkohol zufließen und kann an der

Intensität der weißen, aus reinem Bleisulfat bestehenden Fällung die Menge des vorhandenen Bleis schon einigermaßen abschätzen. Nach ein paar Stunden sammelt man das Bleisulfat auf einem festgestopften Asbestfilter von der Art eines Allihnschen Röhrchens (Durchmesser nicht über 1 cm), das auf eine Saugflasche aufgesetzt ist, und wäscht zweimal mit 70proz., 5% Schwefelsäure enthaltendem Alkohol, dann zweimal mit 96proz. Alkohol nach.

Nach dem Wechsel der Saugflasche bringt man in den Kjeldahlkolben etwa 10 ccm Wasser, läßt einmal aufkochen, schwenkt ordentlich um und schickt die Flüssigkeit durch das Filter. Die Menge der nunmehr zu verwendenden Ammonazetatlösung richtet sich nach der Masse des Bleisulfatniederschlages, da bei starkem Überschuß an Ammonsalz durch chromsaure Salze keine Bleifällung zustandekommt. Ist weniger als 1 mg Blei zu erwarten, so müssen 2 bis 3 ccm 10proz. Lösung genügen, bei größerem Bleigehalt kann man entsprechend mehr und konzentriertere Lösung verwenden. Man löst damit zunächst alle an den Wänden des Kjeldahlkolbens haften gebliebenen Bleisulfatspuren auf, und gießt sodann die heiße Lösung — nach Abstellung der Saugpumpe — auf den Niederschlag im Filter, dessen Auflösung man durch leichtes Aufwirbeln der obersten Asbestlage beschleunigen kann. Nach etwa 5 min saugt man durch und spült Kjeldahlkolben und Filter zweimal mit heißem Wasser nach. Nach der Abnahme des Filterröhrchens kann ein Tropfen aufgebrachte Ammonsulfidlösung davon überzeugen, daß wirklich alles Blei ausgewaschen wurde. Das klare farblose Filtrat von 30 bis 40 ccm Volumen wird in ein Erlenmeyerkölbchen übergeführt.

Jetzt gibt man 3 Tropfen einer 5proz. Kaliumchromatlösung zu und läßt den entstehenden Bleichromatniederschlag — dessen Menge uns nebenbei wiederum ein Schätzungsurteil über den Bleigehalt ermöglicht — am besten bis zum nächsten Tage absitzen. Die überstehende Flüssigkeit muß deutlich gelb gefärbt sein, andernfalls hat weitere Chromatzugabe zu erfolgen. Nun wird wiederum durch ein Allihnsches Filtrierröhrchen filtriert und Erlenmeyerkölbchen und Filter dreimal mit stark verdünnter Ammonazetatlösung ausgewaschen. Ein an der Kölbchenwand haften bleibender feiner Überzug von Bleichromat braucht nicht quantitativ abgekratzt zu werden, man bringt die Reste vielmehr zuletzt zur Auflösung, indem man 5 ccm 2,5proz. Salzsäure („reine" Salzsäure vom spez. Gew. 1,124, 10fach verdünnt) in das Kölbchen bringt und erwärmt. Dann gießt man die gleiche Säure — nach Wechsel des Saugglases und Abstellung der Pumpe — auf das Asbestfilter und bringt das darauf gesammelte Bleichromat ebenfalls zur Lösung. (Sollte bei größeren Niederschlägen die Säuremenge nicht ausreichen, so kann unbedenklich mehr in Verwendung genommen werden; Umrühren mit dem Glasstab tut wieder gute Dienste.) Zum Schlusse wird durchgesaugt und mit heißem Wasser Kölbchen und Filter gründlich nachgewaschen.

In dem bei Anwesenheit von Blei gelblich gefärbten Filtrate befindet sich das Blei als Chlorid; die vorher an das Blei gebundene Chromsäure ist jetzt frei in Lösung:

$$\frac{PbCrO_4}{207{,}1} + 2\,HCl = PbCl_2 + \frac{H_2CrO_4}{118{,}0}.$$

Chromsäure vermag aber Jodwasserstoff quantitativ zu freiem Jod zu oxydieren:

$$\frac{H_2CrO_4}{118,0} + 6\,HCl + 3\,JK = CrCl_3 + 3\,KCl + 4\,H_2O + \frac{3\,J}{380,76}.$$

207,1 g Blei entsprechen also 380,76 g Jod (oder 118 g Chromsäure = 147,1 g Kaliumbichromat), oder 1 g Blei entspricht 1,8385 g Jod (bzw. 0,7103 g Bichromat).

Die Natriumthiosulfatlösung, mit welcher das frei gewordene Jod titriert werden soll, wird demnach am besten mit einer Jodlösung, die 1,8385 g im Liter enthält (oder der gleichwertigen Bichromatlösung) ausgeglichen; in 1 l müssen sich dann theoretisch 3,5957 g ($Na_2S_2O_3 + 5\,H_2O$) befinden. 1 ccm dieser Lösung ist genau gleich 1 mg Blei.

Praktisch gestaltet sich das maßanalytische Verfahren folgendermaßen: Die Lösung, deren Volum etwa 30 ccm beträgt, wird in ein Erlenmeyerkölbchen übergespült und mit 1 ccm verdünnter Salzsäure (spez. Gew. 1,06) sowie ein paar Körnchen Jodkali versetzt. Dann wird sofort, um eine Luftoxydation des Jodwasserstoffs auszuschließen, Kohlensäure in das Kölbchen eingeleitet und ein Gummistopfen aufgesetzt. Nach 5 min ist die Umsetzung beendet; die Titrierung soll dann auch baldigst unter Verwendung von löslicher Stärke als Indikator erfolgen. Bei größeren Bleimengen kommt es nach der Jodkalizugabe nicht selten zu einer Ausscheidung von Jodblei; durch tropfenweise Zugabe einer starken (50proz.) Ammonazetatlösung bringt man dieselbe wieder zum Verschwinden, muß aber nachher solange Salzsäure zufügen, bis — unter Kontrolle von Kongopapier — wieder eine kräftige mineralsaure Reaktion vorhanden ist.

Die Genauigkeit des titrimetrischen Verfahrens ist eine vollkommen ausreichende. Kontrollanalysen ließen mir Bleimengen von $^1/_{20}$ mg noch deutlich erkennen, und ich zweifle nicht, daß die Empfindlichkeit der Reaktion durch Verwendung einer verdünnteren Thiosulfatlösung noch gesteigert werden könnte. Auch der ganze geschilderte Gang der Analyse hat sich mir recht gut bewährt; zu Harn und Kot zugesetzte Bleimengen wurden stets restlos wiedergefunden. Sehr wichtig ist, daß das Blei im Laufe der Analyse zweimal (als Sulfat und Chromat) in der Form eines unzweideutigen Niederschlags erhalten wird und geschätzt werden kann, so daß man nicht Gefahr läuft, etwas Analysenfremdes zu titrieren. Hat man sich auf die Methode einmal spezialistisch eingerichtet, so macht auch die Ausführung keine sonderliche Mühe mehr, man vermag dann leichtlich ein halbes Dutzend Bestimmungen nebeneinander laufen zu lassen.

Zum Schlusse braucht wohl kaum eigens hervorgehoben zu werden, daß alle verwendeten Chemikalien und Gerätschaften (Kjeldahlkolben!) auf Bleifreiheit resp. Fehlen jeglicher Bleiabgabe geprüft wurden.

3. Quecksilberbestimmung.

Der quantitative Nachweis von Quecksilberspuren in größeren Mengen organischer Substanzen ist nicht allein durch die Zersetzlichkeit und Flüchtigkeit der Salze, sondern auch dadurch erschwert, daß die unkomplizierten

Ionenreaktionen — mit Ausnahme der Sulfidfällung — nicht zu vollkommen unlöslichen, charakteristischen Niederschlägen führen. Man hat zwar versucht, gerade die leichte Verdampfbarkeit des Metalls zur Analyse auszunutzen, indem man die getrocknete Substanz im Verbrennungsrohr mit Kupferoxyd glühte und die Verbrennungsgase in eine das Quecksilber zurückhaltenden Vorlage einleitete (August Meyer); eine Nachprüfung dieser Methode, die ich vorgenommen habe, ergab aber, daß sie viel zu umständlich ist und zu vieler Wartung bedarf, um in größerem Umfange praktisch verwendbar zu sein. Man wird demnach um die Zerstörung der organischen Substanz auf feuchtem Wege nicht herumkommen. Die Chlorierung macht indes eine Fällung des Metalles durch H_2S so gut wie unmöglich; bei der zur Niederreißung von Spuren auch bei Kupferzusatz (nach Raaschou) nötigen Abstumpfung der Säure fallen unvollkommen zerstörte organische Körper aus, Reste von freiem Chlor und Chlorat führen zu einer Abscheidung von Schwefel — es kommt so zu einem schlecht absitzenden, schlecht filtrierenden Niederschlag, dessen weiterer Verarbeitung die größten Schwierigkeiten im Wege stehen. Man ist also auf die Ausbeutung anderer Eigenschaften des Quecksilbers für seine Isolierung angewiesen. Von den Bestimmungsmethoden, welche tatsächlich praktische Verwendungsmöglichkeit haben, kommen für genaue quantitative Ermittelung zwei Arten in Betracht:

1. die Amalgamierungsverfahren,
2. die Elektrolyse[1]).

Die Amalgamierungsmethoden, in der Weise ausgeführt, daß die quecksilberhaltige Flüssigkeit mit elementarem Kupfer, Zink, Messing, Silber oder Gold in ausgiebige Berührung gebracht wird, wobei sich das Quecksilber quantitativ auf der Oberfläche des betreffenden Metalles niederschlägt und mit demselben legiert, spielen in den älteren Arbeiten die Hauptrolle. Die ausgearbeiteten Verfahren haben fast sämtlich den Vorzug, unschwer ausführbar zu sein und eine vollkommene Abscheidung des Quecksilbers zu gewährleisten, die Schwierigkeiten treten erst auf, wenn es sich um die zahlenmäßige Bestimmung der niedergeschlagenen Quecksilbermengen handelt. Diese müssen durch Destillation von dem fixen Metalle getrennt werden, wobei entweder die Gewichtsabnahme des Destillationsobjektes (Goldamalgamierröhrchen von Schuhmacher-Jung) oder die Gewichtszunahme einer Kühlvorlage (Kapillaren von Ludwig und Winternitz) dem vermuteten Quecksilber gleichgesetzt wird. Hier befriedigt keine der zahlreich vorgeschlagenen Einzelmethoden, weil entweder die Masse des mitgewogenen Ballastes zu groß ist, um Quecksilbermengen von wenigen Zehntelmilligrammen noch mit Sicherheit zu bestimmen, oder Gefahr besteht, daß die gewogene Vorlage nach kräftigem Erhitzen noch etwas anderes als Quecksilber (z. B. Zink, dessen

1) Erst beim Abschluß meiner Untersuchungen stieß ich auf die Arbeiten von Lomholt, der nach vollständiger Mineralisierung mit rauchender Salpetersäure und Kaliumpermanganat das Quecksilber mit Kupfer zusammen als Sulfid fällt und die gelösten Sulfide zuletzt (wie ich) der Elektrolyse unterzieht und zwar bei ganz niederer Stromspannung, bei welcher das Kupfer nicht abgeschieden wird.

Siedepunkt bei 900° C liegt), bzw. nach zu vorsichtiger Destillation nicht alles Quecksilber enthält.

Infolgedessen scheint sich die elektrolytische Bestimmungsmethode zahlreiche Freunde erworben zu haben, zumal seit Buchtala sie in eine leicht ausführbare und nach seiner Angabe zuverlässige Form gebracht hat. Die chlorierte Flüssigkeit wird einfach in ein Becherglas gegossen, als Anode ein in einer Tonzelle stehender Kohlenstab, als Kathode ein Goldplättchen eingesetzt; nach mehrstündiger Stromdauer ist alles Quecksilber an der Goldkathode abgeschieden, dessen Menge sich durch Auswägung der Glühdifferenz ergibt.

Viele Vorversuche, in denen ich dieses Verfahren erprobte, überzeugten mich, daß dasselbe den gesetzten Erwartungen im allgemeinen entspricht, wenn es sich um kleinere Menschenurinmengen (bis zu ½ l) handelt, deren Gehalt an organischer Substanz verhältnismäßig gering ist und die zu ihrer Mineralisierung keiner allzugroßen Mengen chlorsaurer Salze bedürfen. Dagegen ergaben sich Mißstände, als ich daran ging, Katzenharn (der gewöhnlich konzentrierter als Menschenurin ist), Faeces und Organe ebenso zu behandeln. Es kam hier entweder zu einem Überschäumen der Flüssigkeit im Elektrolysenglas unter der Wirkung der von der Kathode aufsteigenden Wasserstoffbläschen und zu einer Umhüllung der ganzen Kathode durch organische Fällungen, welche an dieser Stelle verminderter Säurekonzentration auftraten oder (bei übertrieben langer, bis 24stündiger Chlorierung) zu einer die Quecksilberabscheidung störenden Chlorentwicklung. Bei Kotanalysen schied sich nicht selten schwärzliches, schwammiges Eisen auf der Goldkathode ab, das ebenfalls die Amalgamierung stark behinderte. So mußte, um in günstigen Fällen wenigstens den größten Teil des zugesetzten Quecksilbers wieder zu erhalten, unter mehrmaligem Wechsel der Kathode enorme Zeiten, bis zu 60 h, elektrolysiert werden. All diese Übelstände kamen vor, gleichgültig, ob ich mit dem städtischen Gleichstrom von 110 V arbeitete (was bei Serienschaltungen nötig war) oder mit einem Akkumulatorenstrom von 6 V; darunter durfte ich nicht gehen, wenn die von Buchtala angegebene Stromstärke von 1 bis 1,25 A beibehalten werden sollte.

Es war demnach klar, daß die Elektrolyse, so gute Dienste sie bei verhältnismäßig reinen Lösungen tat, zur direkten Quecksilberbestimmung aus voluminösen Organen und Kotmassen nicht verwendbar war. Meine Absicht ging nun dahin, die durch Reste organischer Substanzen und andere Metalle, wie Eisen, nicht zu beeinträchtigende Amalgamation mit der als Endbestimmung recht vorteilhaften Elektrolyse zu vereinigen.

Prinzip des Verfahrens: Die Chlorierungsflüssigkeit wird in Anlehnung an die Methode von Winternitz in langsamem Strome durch ein Filter aus blankem Kupfer geschickt, wobei das Quecksilber auf der Kupferoberfläche zurückgehalten wird. Durch Destillation wird das Quecksilber vom Kupfer getrennt und in eine Salpetersäurevorlage geleitet, aus welcher es dann elektrolytisch nach Buchtala abgeschieden wird.

Ausführung: Organe und Faeces werden in einer Porzellanschale mit soviel ccm reiner Salzsäure (spez. Gew. 1,124) übergossen, als ihr Ge-

wicht in Grammen beträgt und 3 bis 4 Tage stehen gelassen; dann werden sie mit einem Glasstabe nach Möglichkeit zu einem Brei zerquetscht. Nun gießt man ebensoviel Wasser wie vorher Salzsäure zu und erhitzt auf dem Wasserbade. Nach etwa 1 Viertelstunde werden eine oder sukzessive mehrere Messerspitzen chlorsaures Kali eingetragen, bis die Flüssigkeit im allgemeinen entfärbt ist; kompaktere schwärzliche Partikel werden mit einem Glasstabe zerdrückt und damit ihre Chlorierung beschleunigt. Sind keine gröberen Substanzklümpchen mehr vorhanden, so spült man die Flüssigkeit in einen langhalsigen Rund- oder Stehkolben von dem doppelten bis dreifachen Fassungsvermögen als ihr Volumen beträgt, setzt mit einem Korkstopfen noch ein $\frac{1}{2}$ m langes Glasrohr auf und erhitzt je nach der Menge der Substanz weitere 2 bis 6 h auf dem Wasserbade, wobei man etwa alle halben Stunden eine neue Messerspitze Chlorat in den Kolben wirft.

Harn wird mit 10% „reiner" Salzsäure versetzt und in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade auf etwa $^1/_3$ eingeengt, wobei man von Anfang an ein paar Messerspitzen Kaliumchlorat zusetzt; ist das gewünschte Volumen erreicht, so spült man gleich in einen Rundkolben über und erhitzt unter weiterer Chloratzugabe noch 2 h.

Am Ende der Chlorierung spült man das Kühlrohr durch, spritzt den Kork sauber ab und leitet in die noch warme Flüssigkeit eine Viertelstunde lang zur Vertreibung des freien Chlors Kohlensäure ein. Nun wird genau 1 ccm der Flüssigkeit gegen n/5-Natronlauge titriert und die Flüssigkeit nach Überführung in einen genügend großen Meßzylinder soweit mit Wasser verdünnt, daß sie einer n/10-Säure gleichkommt, d. h. es werden $V \times (t-2):2$ ccm Wasser zugesetzt, wenn V das gemessene Flüssigkeitsvolumen und t die verbrauchte Menge n/5-Lauge ist. Nach guter Durchmischung läßt man bis zum nächsten Tage absitzen. $\frac{3}{4}$ bis $^4/_5$ der Flüssigkeitssäule lassen sich dann in raschem Schwunge ziemlich klar abgießen; sie werden zuerst in einen zweiten Meßzylinder filtriert und der Bodensatz endlich auch noch auf das Filter geschüttet. So gelingt es auch bei Stühlen, die reich an unzerstörbarer Rohfaser sind, 80% und mehr der Chlorierungsflüssigkeit als klares Filtrat zu erhalten. Diese Prozentzahl wird vermerkt.

Nunmehr ist die Flüssigkeit für die Amalgamationsfiltration hergerichtet. Das Filtrierrohr (s. Fig. 6) besteht aus einer 10 mm-Hartglasröhre (Außenmaß) von 45 cm Länge, an welche ein 30 cm langes 5 mm-Hartglasrohr angeschmolzen ist. Letzteres ist in etwa 10 cm Entfernung von der Verschmelzungsstelle zu einem Winkel von etwa 110° abgebogen. In den Grund der weiteren Röhre bringt man zunächst ein 1 cm hohes Stück zusammengerolltes feinmaschiges Kupfergitter, darauf eine 18 cm hohe Schicht Kupferoxyd, wie es für Elementaranalysen gebraucht wird, darauf wieder ein gerolltes Kupferdrahtnetz. Die Reduktion des Kupferoxyds geschieht im Wasserstoffstrom bei Rotglut in dem nachstehend beschriebenen Destillationsofen. Die vorbereitete Filtrierröhre wird jetzt vollkommen mit destilliertem Wasser erfüllt und an das freie Ende des englumigen Röhrchens ein Kapillartropfer mit Gummischlauch aufgesetzt. (Solche Tropfer stellt man sich selbst durch Ausziehen eines Glasrohres her und eicht sie durch sukzessives Kürzen der Haarröhre. Eine Verstop-

fung der letzteren wird durch vorgelegte Glaswolle, ein Abbrechen durch ein darüber gekittetes Schutzröhrchen verhindert.) Dann verbindet man, wie aus der Abbildung hervorgeht, das andere Rohrende durch Gummistopfen mit dem Hals einer umgekehrten Literflasche, deren Boden abgesprengt wurde, und gießt die Chlorierungsflüssigkeit oben auf. Unter das Tropfröhrchen kommt ein entsprechend großes Becherglas. Die Durchflußgeschwindigkeit soll 200 ccm in der Stunde betragen. Dabei

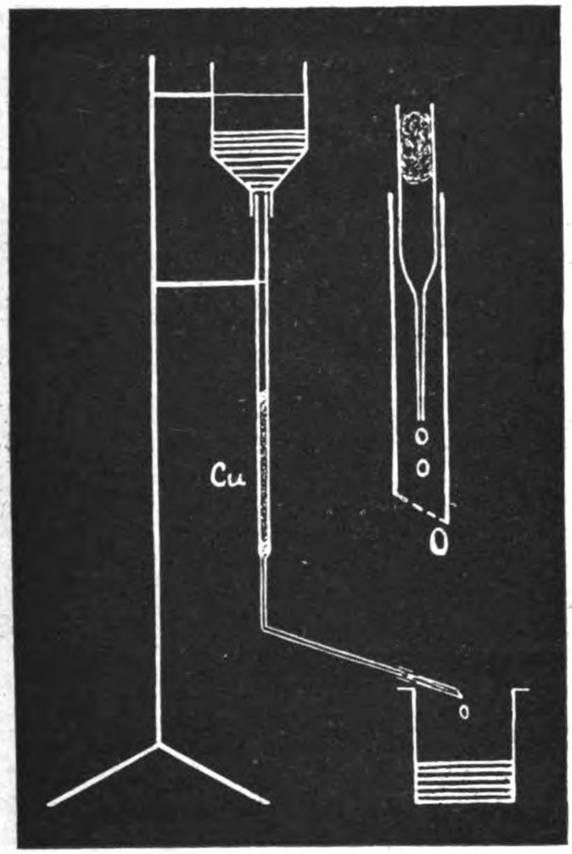


Fig. 6. Darstellung der Amalgamations-Filtration.
Nebenfigur: Kapillartropfer in natürlicher Größe.

werden mindestens 90% des Quecksilbers zurückgehalten; ein nochmaliger Aufguß der durchs Filter gelaufenen Flüssigkeit führt zu einer praktisch vollkommenen Abscheidung. Kupfer soll nicht oder doch nur in ganz geringer, sich durch Blaufärbung kaum verratender Menge in Lösung gehen, andernfalls war die Flüssigkeit nicht ordnungsgemäß vorbereitet. Ist die Filtration beendet, so wird das Filtrierrohr von der Flasche abgenommen, der Tropfer (der sofort ausgewaschen werden muß!) entfernt und die Kupferschicht durch 3 $\times$ 25 ccm destilliertes Wasser, 3 $\times$ 25 ccm 96proz. Alkohol und 3 $\times$ 25 ccm Äther gewaschen, die man durch einen

kleinen Trichter eingießt und unten in bereitgestellten Sammelgefäßen auffängt. Endlich saugt man mit der Wasserstrahlpumpe 5 min lang einen kräftigen Luftstrom durch das Rohr, wodurch das Kupfer genügend getrocknet wird.

Der nächste Schritt ist die Abdestillation des Quecksilbers. Man läßt zu diesem Behufe durch das weite Rohrende einen langsamen Strom von getrocknetem Wasserstoff eintreten (s. Fig. 7) und verbringt das Rohr in den Destillierofen, wo es zwischen 2 inneren Ton- und 2 äußeren Eisenrinnen vor allzu intensiver Einwirkung der Flammenhitze bewahrt bleibt. Ein in der Abbildung nicht gezeichnetes, über den ganzen Ofen gelegtes, spitzwinkelig geknicktes und mit Luftlöchern versehees Asnbestdach sorgt für eine gleichmäßige Verteilung der Wärme, so daß nach etwa 5 min das Rohr auf allen Seiten in eine milde Rotglut gerät.

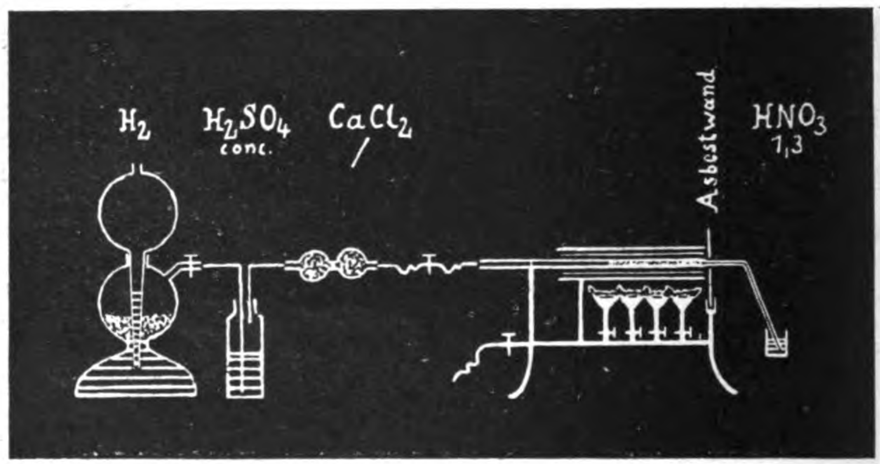


Fig. 7 Darstellung der Abdestillation des Quecksilbers.

Schon vor dem Anzünden der Gasflammen wurde die Austrittsstelle des Wasserstoffs auf den Grund eines kleinen Becherglases gesenkt, in dem sich als Vorlage 20 ccm Salpetersäure vom spez. Gew. 1,30 befinden. Eine Asbestplatte, welche einen Schlitz zum Einlegen des Destillationsrohres besitzt, schützt das Absorptionsgefäß vor der Wärmestrahlung der Flammen. Die Geschwindigkeit des Wasserstoffstromes wird so geregelt, daß in der Sekunde 2 Gasbläschen aus dem Rohrende entweichen. Die Dauer der Rotglutdestillation beträgt eine Viertelstunde. Am Schlusse derselben erhitzt man mit der Flamme eines Bunsenbrenners die Stelle des Rohres, wo sich die Destillationsprodukte — Quecksilber und oft noch kleine Mengen empyreumatischer Substanzen, manchmal auch Spuren von Kupfer — verdichtet haben, und treibt dieselben langsam gegen die Vorlage zu, bis auf 1 cm Abstand vom Rand des Bechergläschens. Ohne daß die Wasserstoffentwicklung unterbrochen wird, läßt man dann das Rohr unter allmählicher Abnahme der isolierenden Hüllen im Verlauf einer weiteren Viertelstunde erkalten.

Die Herauslösung der Destillate aus dem Innern des Röhrchens erfolgt leicht in der Weise, daß man nach Entfernung der Wasserstoffzuleitung am weiteren Rohrende mit dem Munde ansaugend, die Salpetersäure bis etwas über die Höhe des Wandbelages hochzieht, dann wieder zurückfallen läßt und dieses Spiel 10 bis 20 mal wiederholt. Zum Auswaschen taucht man das Ende des Röhrchens der Reihe nach in 3 mit je 20 ccm Wasser gefüllte Gläschen und läßt beim Ansaugen den Flüssigkeitsspiegel im Röhrchen jedesmal ein wenig höher steigen, doch ohne daß die Kupferschicht benetzt wird. Am Schlusse trocknet man unter neuerlichem Wasserstoffdurchtritt das Rohr durch vorsichtiges Erhitzen mit der Bunsenflamme, worauf es zu frischer Verwendung bereitsteht.

Nun spült man den Inhalt aller vier kleinen Gläschen mit ferneren 120 ccm Wasser in ein breites Becherglas (aus Jenenser Glas) von 400 ccm Fassungsraum, so daß das gesamte Flüssigkeitsvolumen 200 ccm beträgt. Nachdem man zur Erhöhung der Azidität noch 5 ccm konz. Schwefelsäure zugegeben hat, ist die Flüssigkeit für die Elektrolyse hergerichtet.

Als Anode verwendete ich, nachdem ich mich von der Unbrauchbarkeit der Platinelektroden für diese Zwecke aus den von Buchtala angegebenen Gründen (Abscheidung eines teilweise flüchtigen Platinüberzuges auf der Kathode) überzeugt hatte, gleich letzterem einen Kohlenstab. Die Auswahl einer geeigneten Kohle ist für das Gelingen der Elektrolyse von größter Wichtigkeit. Es zeigte sich nämlich, daß die gewöhnlichen Gaskohlen (von Siemens, Berlin und Conradty, Nürnberg) nach etwa 2stündiger Stromdauer nicht nur in sehr erheblichem Maße zu Pulver zerfielen, sondern daß auch große Stücke von ihnen absprangen, wodurch die Gleichmäßigkeit des Stroms gefährdet, ja der Strom zuweilen sogar ganz unterbrochen wurde. Nach vielen vergeblichen Versuchen fand ich endlich in der Elektrodenkohle der Acheson Graphite Company (Hamburg 8) ein Präparat, welches nichts mehr zu wünschen übrig ließ. Ein 25 cm langes Stück einer solchen 18 mm-Kohle ist bei den von mir gewählten Stromverhältnissen gegen 100 h brauchbar, in welcher Zeit es ganz langsam und gleichmäßig arrodiert wird. Den Kohlenstab stellt man in eine Tonzelle von 10 cm Höhe und 4 cm Durchmesser (Außenmaße), welche vorher mit 35 ccm einer 30proz. Lösung von neutralem Kaliumoxalat (spez. Gew. 1,2) gefüllt wurde; die Tonzelle selbst wird in das Becherglas mit der Elektrolysenlösung eingesetzt. Die Kathode bildet ein rechteckiges (3,5 $\times$ 2,5 cm) Goldplättchen von 0,1 mm Dicke (Gewicht 1,7 g), welches an einen 10 cm langen Platindraht angeschweißt (nicht angelötet) wird.

Die Abbildung eines soliden Elektrolysenstativs findet sich bei Buchtala; man kann sich aber solche Apparaturen mit leichter Mühe und wenig Hilfsmitteln improvisieren. Ich habe mir eine Anzahl aus dicken Holzbrettchen (12 $\times$ 15 cm) hergestellt, an deren schmale Rückwand in einem Abstand von 6 cm² senkrecht nach oben führende, starke Zinkblechstreifen mit Klemmschrauben befestigt wurden; an den einen derselben wurde in der Höhe von 12 cm ein quer nach vorn gebogener, mit einem Endhäkchen versehener, kräftiger Platindraht zum Einhängen der Kathode angelötet, während der andere mit dem zur Anodenkohle führenden Alu-

miniumdraht umwickelt wurde. Die Kohle wurde in einfachster Weise durch das Einschlagen eines mit dem Zuleitungsdraht fest umwickelten Stahlstiftes in den Stromkreis eingeschaltet.

Von den von mir verwendeten Stromquellen war bereits oben die Rede; für eine Einzelelektrolyse genügte eine dreizellige Akkumulatorenbatterie, ohne Benötigung eines Vorschaltwiderstandes, für eine Serie hintereinander in den gleichen Stromkreis eingeschalteter Abscheidungszellen war es dagegen nötig, den Lichtstrom des Laboratoriums (110 V-Gleichstrom) zu benutzen, der mit Hilfe eines Schlittenrheostaten auf eine Stärke von 1,2 A gebracht wurde.

Was die Dauer der Elektrolyse betrifft, so ist es auffallend, wie die Zeitangaben der Autoren, die sich einer Stromstärke von etwa 1 A bedienten, von Schneider bis Ilzhöfer, in weiten Grenzen, zwischen 4 und 25 h, schwanken. Es wird dies freilich klar, wenn man sich überlegt, daß die Abscheidungsgeschwindigkeit nicht allein von der Stromstärke, sondern auch von dem Verhältnis der Quecksilbermenge zum Gesamtelektrolytgehalt der Flüssigkeit abhängt — und hier sind ja bei der unmittelbaren Elektrolyse chlorierter Substanzen die allergrößten Verschiedenheiten möglich; wie sehr dabei noch andere Nebenumstände stören können, darauf wurde schon auf S. 201 hingewiesen. Eine solche Unsicherheit kann bei der Elektrolyse unserer salpeter- und schwefelsauren Lösung konstanter Zusammensetzung nicht bestehen; die Abscheidungsdauer wird hier nur noch von der Quantität des vorhandenen Quecksilbers abhängig sein. Ich habe für Mengen bis zu 3 mg einen 6stündigen Stromdurchgang stets genügend gefunden; die Hauptmasse ist bereits nach 1 h abgeschieden.

Der Strom wird dadurch unterbrochen, daß man die Kathode rasch aus der Zelle heraushebt und sofort in ein Gläschen mit destilliertem Wasser bringt; Verweilen in der stromlosen Lösung könnte bei der Anwesenheit freier Salpetersäure zu einer Wiederauflösung von Quecksilber führen. Es empfiehlt sich deshalb, bei batterieweiser Hintereinanderschaltung mehrerer Zellen, vor der Herausnahme der Goldelektroden Nebenschlüsse anzulegen, damit bei Ausschaltung einer Zelle nicht auch gleichzeitig alle anderen außer Betrieb gesetzt werden. Die amalgamierten Goldplättchen kommen nun der Reihe nach in folgende Bäder: 3proz. Salzsäure (50° C), destilliertes Wasser, 10proz. Natronlauge, zweimal destilliertes Wasser, abs. Alkohol, Äther. Nach der Herausnahme aus dem Äther sind sie in wenigen Minuten trocken und können gewogen werden. Ich habe wie Buchtala eine feine Kuhlmann-Wage benutzt, die Zehntelmilligramme noch gut abzuwiegen und Hundertstelmilligramme abzuschätzen gestattet; eine Mikro-Nernst-Wage, wie sie Lomholt verwendete, stand mir nicht zur Verfügung, war auch für die von mir verfolgten Zwecke unnötig. Die zahlenmäßige Bestimmung des Quecksilbers erfolgt am genauesten durch seine Abdestillation und die Auswägung der entstehenden Gewichtsabnahme der Goldplatte. Man kann diese Verdampfung, wie es die meisten getan haben, im Reagensglase vornehmen; einwandfreier ist es sicherlich, sie im Wasserstoffstrom auszuführen, da es hierbei nicht zu einer Oxydation manchmal vorhandener kleiner

Kupfermengen kommt. Man rollt zu diesem Zwecke das Plättchen über einem dünnen Glasstab vorsichtig zusammen und bringt es in das Innere eines trockenen Hartglasrohres, von derselben Form und Größe, wie es für die Kupferfiltration benutzt wurde, mit dem einen Unterschiede, daß der englumige Teil nicht winkelig abgebogen ist. Das Rohr wird in der gleichen Weise wie jenes in den Destillierofen versenkt und unter Wasserstoffdurchtritt erhitzt, wobei sich das vorhandene Quecksilber als feiner, weißlicher bis grauer Wandbeschlag in dem engen Röhrchen ansammelt. Nach dem Erkalten wird wieder gewogen. Mengen, die an der Grenze der Wägbarkeit und darunter stehen, können durch Verwandlung des dann kaum sichtbaren Metallbeschlags in den leuchtend roten Jodidbeschlag noch kolorimetrisch vergleichbar gemacht werden. Um die rote, nicht die gelbe Modifikation des Jodids zu erhalten, pflege ich die Jodierung in der Kälte auszuführen, und zwar so, daß ich ein Glasröhrchen, in dem sich zwischen 2 Wattepfropfen festes Jod befindet, durch ein Gummistück mit dem Destillierrohre verbinde und am anderen Ende desselben $\frac{1}{2}$ h lang mit der Wasserstrahlluftpumpe schwach ansauge.

Das an der Kathode abgeschiedene Quecksilber läßt sich auch sehr einfach volumetrisch nach Rupp bestimmen; indessen darf man zu dieser Methode nur greifen, wenn so viel Quecksilber vorhanden ist, daß die Goldplatte einen deutlichen Silberschimmer zeigt. Für die kleinen in Betracht kommenden Mengen mußte die Methode folgendermaßen modifiziert werden:

In einem Reagensrohr mit 5 ccm kochender Salpetersäure vom spez. Gew. 1,15 wird der Quecksilberbelag von der Elektrode abgelöst und diese beim Herausziehen mit 2 ccm Wasser abgespült. Dann kocht man die Flüssigkeit nochmals auf, um alle gebildete salpetrige Säure, welche die Reaktion stören würde, zu entfernen, und gießt unter Verwendung von 3 ccm Nachspülflüssigkeit in ein kleines Bechergläschen um. Gesamtvolumen also 10 ccm. Hierauf Zusatz von 5 Tropfen konz. Ferrialaunlösung als Indikator und Titration mit n/100-Rhodanammonlösung (1 ccm = 1 mg Quecksilber) bis zur lichtbraunen Färbung:

$$1.\quad Hg(NO_3)_2 + 2CNS(NH_4) = 2(NH_4)NO_3 + \frac{Hg(CNS)_2}{\text{farblos}}.$$

$$2.\quad Fe(NO_3)_3 + 3CNS(NH_4) = 3(NH_4)NO_3 + \frac{Fe(CNS)_3}{\text{braunrot}}.$$

Wesentlich ist unbedingte Abwesenheit auch der kleinsten Halogenspuren; es würde sich sonst nicht das Rhodanid des Quecksilbers, sondern komplexes Quecksilberammoniumhalogenid bilden und also die Eisenreaktion zu bald eintreten. Im übrigen ist die Methode zuverlässig, der Umschlag recht scharf. Kleine Kupfermengen, die mit in Lösung gehen könnten, stören nicht.

Am Ende der Quecksilberbestimmung angelangt, darf nicht vergessen werden, daß der gefundene Wert (*hg*) nur ein gewisser Bruchteil des in der Substanz wirklich vorhanden gewesenen Quecksilbers ist, da ja nicht die gesamte chlorierte Substanz, sondern nur ein abfiltrierter Prozentsatz derselben zur weiteren Bestimmung verwendet wurde. Wenn *p*

die damals vermerkte Prozentzahl darstellt, so ist der wirkliche Quecksilbergehalt $hg \cdot 100/p$.

Was die Fehlerbreite des ganzen geschilderten Analysenganges anbelangt, so hat eine Reihe von Kontrollversuchen ergeben, daß im Durchschnitt 95%, im Minimum 90% des zu Harn oder Kot künstlich zugefügten Quecksilbers wiedergefunden werden. Es dürfte diese Genauigkeit bei der Kleinheit der überhaupt vorhandenen Mengen auch strengen Ansprüchen genügen, zumal nach meiner Erfahrung keine Methode Besseres zu leisten imstande ist. Woher die kleinen Verluste und besonders die Schwankungen der Genauigkeit kommen, ist mit voller Sicherheit nicht zu sagen, doch scheint mir die Hauptschuld daran zu liegen, daß der bei der Chlorierung stets vorhandene Rückstand wechselnde Mengen, meist aber verhältnismäßig mehr Quecksilber enthält als die klare Flüssigkeit. Es ist dies ein Fehler, der dem Chlorierungsverfahren anhaftet, der aber nicht zu vermeiden sein wird.

Wir sind damit mit der Schilderung der analytischen Methodik zu Ende gekommen und können in die Besprechung der Versuchsergebnisse eintreten.

IV. Ergebnisse der experimentellen Studien über die Bleiresorption durch die Haut.

Die Entscheidung der Frage, ob Blei und Quecksilber von der intakten Warmblüterhaut resorbiert werden, kann nur im exakten Experimente gesucht werden. Klinische und gewerbehygienische Beobachtungen, die oft erst nach dem Auftreten von Vergiftungssymptomen einsetzen und niemals den Aufnahmeweg durch Nase und Mund mit Sicherheit auszuschließen vermögen, führen höchstens zu gewissen Wahrscheinlichkeitsurteilen, die je nach den vorliegenden Verhältnissen verschieden ausfallen können. Es soll deshalb auf die zahlreichen Behauptungen, Mutmaßungen und Schlüsse aller Autoren, welche das Problem der perkutanen Bleiresorption nicht experimentell bearbeitet haben, hier nicht weiter eingegangen werden.

In Frankreich, wo der Erscheinungskomplex des Saturnismus überhaupt seine erstmalige zusammenfassende Aufklärung erfahren hat, stoßen wir auch auf die ersten Experimentalversuche zur Beantwortung unserer Spezialfrage.

Canuet stellte 1825 den ersten Badeversuch an, indem er ein Meerschweinchen in warmgehaltene Bleiessiglösung setzte. Da er aber den Einfall hatte, die Resorption durch tiefe Einschnitte in die Rückenhaut beschleunigen zu wollen, so beweist der nach 3 Tagen eingetretene Tod des Tieres zum mindesten nichts für eine Bleiaufnahme durch die unverletzte Haut.

Tanquerel des Planches berichtet in seinem 1839 erschienenen „Abriß der Bleikrankheiten" über 3 Versuche mit fettiger Applikation. Einem Hund und einem Kaninchen rieb er 1—2 Wochen lang täglich mehrmals Bleisalbe in die rasierte Schenkelinnenfläche ein; ein zweiter Hund erhielt ebenso lange auf die rasierte Brust- und Bauchhaut Bleipflaster

aufgelegt. Das Fehlen jeglicher Vergiftungserscheinungen in diesen Fällen läßt sich aber umgekehrt wegen der kurzen Versuchsdauer nicht als sicherer Beweis für die Undurchlässigkeit der Haut verwerten; da von einer Einhüllung der eingeriebenen Hautpartien nichts berichtet wird, so ist zu vermuten, daß die Tiere bei längerer Ausdehnung der Versuche dennoch an einer, allerdings digestiv entstandenen, Bleivergiftung erkrankt wären.

1875 veröffentlichte Drouet 3 weitere Experimente mit Salbenbehandlung. Seine Versuchstiere waren Kaninchen, welchen gewisse Extremitäten — in jedem Falle andere — bis hinunter zu den Zehen mit einer 20proz. Bleiazetat-Schweinefettsalbe täglich einmal eingerieben wurden. Die Erkennung einer lokalen Schädigung des behandelten Gliedes geschah in erster Linie durch Ermittelung der Schwellenwerte für faradischen und galvanischen Strom, die noch eine Muskelerregung hervorriefen. Drouet sah seine Resultate als beweisend für ein Eindringen des Bleiazetats an; in der Tat gingen 2 Tiere spontan nach 10 bzw. 29 Tagen zugrunde (1 wurde nach 12 Tagen getötet), nachdem die behandelten Extremitäten eine deutliche Verminderung der elektrischen Erregbarkeit hatten erkennen lassen. Aber auch Drouet hatte die Möglichkeit einer oralen Bleiaufnahme nicht ausgeschaltet, und es ist wohl zweifellos, daß seine Tiere einer Fütterungsvergiftung erlegen sind. Die Lokalisation der paretischen Erscheinungen erklärt sich nach der heutigen Betrachtungsweise des Entstehens der Bleisymptome aus der durch die Einreibungsprozedur bedingten stärkeren Durchblutung und wohl auch — infolge von Abwehrbewegungen — stärkeren muskulären Beanspruchung der massierten Gliedmaßen.

Monnereau beschrieb 1883 die ersten 3 Verbandversuche, deren Methodik wissenschaftlicher Kritik standzuhalten vermag. Die von ihm mit 20proz. Schweinefettsalben verschiedener Bleipräparate (basisches Azetat, Karbonat, Mennige) täglich ein- bis zweimal an einer rasierten Schenkelaußenfläche und der angrenzenden Rückenhälfte eingeriebenen Kaninchen wurden in den Zwischenperioden mit einem den ganzen Körper nach Art einer Hemdhose einhüllenden, mit Gummistoff gefütterten Schutzmantel bekleidet. Bei den wenig temperamentvollen Kaninchen konnte diese einfache Bedeckung recht wohl eine wirksame Isolierung der behandelten Hautpartien darstellen. Als Index für eine Bleiaufnahme verwendete Monnereau nicht nur die elektrische Reizbarkeit der Muskulatur, die Messung des Blutdrucks und das Verhalten der Herz- und Atemreflexe, sondern er berichtet auch zum ersten Male über chemische Analysen der Organe. Seine Resultate waren vollkommen negativ; in keinem einzigen Falle war in den (19, 33 und 80 Tage ausgedehnten) Versuchen eine Abweichung von der physiologischen Norm oder ein positiver Bleibefund zu konstatieren. Auch eine absichtliche Setzung leichter Skarifikationen bei einem 4. Tier führte nicht zum Eintritt von Vergiftungssymptomen; dagegen trat bei Weglassung des Schutzkleides gleichwie bei der direkten Bleiverfütterung schon nach 2 Wochen der Tod der beiden betreffenden Tiere ein. Blei wurde nur in der Leber des bleigefütterten Kaninchens in Spuren nachgewiesen; da das andere indessen nach der Beschreibung die Salbe von der eingeriebenen Haut ebenfalls fortwährend

abzulecken pflegte, so war die analytische Methodik, der Monnereau leider keine Zeile widmet, sicherlich nicht sehr empfindlich. An der menschlichen Haut (Selbstversuch am l. Unterarm) führten Bleieinreibungen im Verlauf eines Monats zu leichter Sensibilitätsverminderung; im Urin war am 23. Tage kein Blei nachweisbar.

Monnereaus negative Experimente scheinen für die Beurteilung der Frage der perkutanen Bleiresorption in Frankreich entscheidend gewesen zu sein; denn es liegen keine weiteren experimentellen Arbeiten von dort vor.

Erst im Jahre 1912 nahmen in Österreich Brezina und Eugling das Problem wieder auf, indem sie bei Verbandversuchen an Meerschweinchen (Lanolin-, Talg- und Vaselinsalben verschiedener Bleiverbindungen) das Auftreten von basophil gekörnten Erythrozyten im strömenden Blut als Kriterium einer Bleiaufnahme benutzten. Sie hatten stets (mit Ausnahme der Applikation von elementarem Bleistaub) nach frühestens zwei Tagen ein positives Ergebnis, andere Vergiftungssymptome traten nicht auf. Da wir über die Empfindlichkeit dieser biologischen Reaktion noch nicht genügend unterrichtet sind, so lassen diese Untersuchungen, auch wenn die dabei verwendeten Schutzkleider eine orale Bleiaufnahme unmöglich machen, die quantitative Seite des Problems, die für die Praxis die wichtigere ist, noch unbeantwortet.

K. B. Lehmanns Anregung ist es zu verdanken, daß der Versuch gemacht wurde, durch eine chemisch einwandfreie Analyse des Kotes und der Tierorgane zahlenmäßige Angaben über die Menge des die Haut passierenden Bleis zu gewinnen. Vogt und Burckhardt behandelten vier am Rücken kurzgeschorene oder chemisch enthaarte Katzen mit Einreibungen von Salben aus ölsaurem Blei und Vaseline, eine andere mit einer Emulsion von metallischem Bleistaub in Vaseline. Zwei weiteren Tieren wurde endlich die bleihaltige Substanz in wässerigem Medium aufgelegt, in einem Falle Mennige, die mit Glyzerin, Syrup und Honig zu einer salbenähnlichen Masse verrieben worden war, im anderen Azetat, mit dessen Lösung man einen aufgebundenen Wattebausch durchtränkt hatte. Durch Verbände aus Leinwand, Watte, Billrothbattist, Gummipapier und Mullbinden, die außen mit Wasserglas versteift oder mit einem Wachstuchmäntelchen überdeckt wurden, bemühten sich die Autoren, die bleihaltige Masse von der Außenwelt dicht abzuschließen. Ihre Resultate sind nun höchst überraschend. Nicht nur, daß sie Monnereaus (von ihnen selbst als „sorgfältig" bezeichneten) Versuchen widersprechen (Katze 9 und 10 gingen unter deutlichen Bleisymptomen nach 8 bis 9 Wochen zugrunde), sind die im Kot gefundenen Bleimengen, die überdies nur Minimalzahlen darstellen, so enorm (z. B. Katze 15: 230 mg in 12 Tagen!), daß man sich wundern muß, wie gut im allgemeinen dieser Bleistrom durch den Körper vertragen wurde; gerade bei Katze 15 wird von Krankheitserscheinungen überhaupt nicht berichtet. Es fühlte sich deshalb Herr Geheimrat Lehmann, obgleich er glaubte, die Veröffentlichung der auffallenden Befunde nicht verhindern zu sollen, veranlaßt, in einem Nachworte zu derselben auf Versuchsfehler hinzuweisen, welche den Untersuchern trotz aller Achtsamkeit unterlaufen sein könnten. In der Tat weist z. B. der relative Bleireichtum des Mageninhalts (eine Blei-

ausscheidung durch die Magenschleimhaut erscheint nicht wahrscheinlich) bei den beiden spontan eingegangenen Katzen 9 und 10 auf eine orale Aufnahme hin; der Nachweis von 147 mg Blei im viertägigen Kot der unmittelbar vorher mit metallischem Blei behandelten Katze 16 (die überdies ziemlich gesund bleibt!) spricht sehr für eine direkte Verunreinigung der Exkremente mit Salbenmasse. Den Zustand der von den Experimentatoren angelegten Verbände nachträglich zu beurteilen, ist unmöglich; indes haben wohl auch die verwendeten Käfige, die keinen Urinabfluß besaßen, mit Stroh ausgelegt waren und nur eine unvollständige Sammlung des sich oft mehrere Wochen in ihnen anhäufenden Kotes gestatteten, dem gesetzten Zwecke nicht voll entsprochen, und auch der Mangel einer Verbandgewöhnung der Tiere vor dem Experiment (ob nicht die in den ersten Versuchstagen auftretenden „Bleianfälle" von Katze 13 und 16 nur wütende Befreiungsversuche gewesen sind?) ist zu beanstanden.

Die Unsicherheit, welche infolge all dieser Umstände den Zahlen von Vogt und Burckhardt anhaftete, forderte dringend eine Neuaufnahme dieser Versuche unter den strengsten Kautelen. Ich nehme nochmals Gelegenheit, Herrn Geheimrat Lehmann für sein mir dadurch bewiesenes Vertrauen zu danken, daß er dieselbe mir übertrug.

Es folgen nun zunächst die Protokolle von vier von mir an Katzen ausgeführten Versuchen, die bereits Gegenstand einer kurzen vorläufigen Mitteilung waren.

Bleiversuch I.

Ausgewachsene, jüngere, gutmütige Katze.

1. Versuchshälfte:

Versuchstage: (26. I. 18)

a) Verlauf.

0 Auf dem Rücken wird eine Fläche von 8:10 cm mit dem Depilatorium enthaart. Gewöhnungsverband.

7 Alle kleinen Ätzwunden sind abgeheilt. Aufstreichung folgender Salbe auf eine Fläche von etwa 50 qcm:

Plumbi oxydati . . . 5,0
Adipis felium . . . . 10,0.

Darüber kommt ein dichtschließender Verband und Wachstuchmantel (Einzelschichten s. Fig. 2 auf S. 190).

ff. Das Tier bleibt dauernd munter und freßlustig; keine Gewichtsabnahme, keine auffallenden nervösen Symptome, kein Durchfall.

24 Abnahme des Verbandes. Die Verklebung der Billrothbattistschicht ist noch fest. Die etwa ½ cm nachgewachsenen Haare sind durch Salbenmasse verklebt; die Haut besitzt also sicher noch einen Salbenüberzug. Chemische Analyse der über der Gelatinefolie liegenden äußeren Watteschicht samt übergreifenden Verbandrändern ergibt einen Bleigehalt von 0,0 mg. Nach der Einhüllung der Extremitäten mit Watte und Tüchern (um eine Verschmutzung hintanzuhalten) wird die Salbe mit Äther und Seifenwasser abgewaschen; dann einfacher Mullbindenverband und Mantel. (Prüfung auf Blei-Remanenz.)

46 Ende des Versuchs bei vollem Wohlbefinden der Katze. Abnahme des Schutzverbandes.

Versuchstage	b) Gewichte.
0	2620 g
6	2640 g
13	2680 g (abzüglich Verbandsgewicht)
20	2680 g (,, ,,)
24	2700 g (,, ,,)
34	2720 g (,, ,,)
46	2730 g (,, ,,).

c) Blutbefund.

17 Keine basophilen Granula (Giemsafärbung)[1].
23 Keine basophilen Granula.

d) Bleiausscheidung.

	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
0 bis 7	41	0,0	360	0,0
8 ,, 14	36	0,3	510	0,4
15 ,, 24	51	0,3	715	0,3
25 ,, 32	49	0,2	520	0,2
33 ,, 38	37	0,1	415	0,05
39 ,, 46	55	0,1	560	0,1

2. Versuchshälfte (Fütterungsversuch):

Versuchstage

a) Verlauf.

47 Von heute an erhält die Katze täglich etwa 20 mg Blei in Form einer Azetatlösung zum Fleischfutter zugesetzt.

61 Im Verhalten und Befinden der Katze ist keine Änderung eingetreten. Freßlust andauernd gut.

72 Erster nervöser Anfall. Das Tier, das zwecks Reinigung des Käfigs gerade aus demselben herausgenommen und auf den Zimmerboden gesetzt worden war, sprang plötzlich auf und lief 2 bis 3 min lang wie von Hunden gehetzt im Kreise herum, bis es zuletzt in eine Zimmerecke stürzte und sich dort mit ängstlichem Ausdruck an die Wand gepreßt niederhockte. Vor und nach dem Anfalle schrie es einigemale kläglich auf (Kolik?). Nach einer Viertelstunde war es wieder vollkommen ruhig. Futteraufnahme dauernd gut.

85 Neuer Anfall im Käfig.

ff. Die Anfälle werden häufiger, sind von längerer Dauer und werden durch vorhergehendes, oft minutenlanges Schreien eingeleitet. Zwischen ihnen ist das Verhalten zunächst noch normal, allmählich tritt eine zunehmende Scheu vor Berührung und eine auffallende Schreckhaftigkeit ein, welche das Tier bei jedem stärkeren Geräusch und jeder in der Nähe ausgeführten raschen Bewegung zusammenzucken läßt. Indes gelingt es bis zuletzt, durch Streicheln und Liebkosen die Unruhe zu überwinden und das Tier zum Schnurren zu bringen.

Der Appetit nimmt ab, daher langsame Abmagerung; dazwischen wird manchmal die Nahrung, zumal rohes Fleisch, mit Heißhunger verschlungen. Der Kot ist mitunter dünn.

109 Außergewöhnlich schwerer Anfall, in dessen Verlauf sich ein allgemeiner Muskelkrampf einstellte. Das auf der Seite liegende Tier hatte alle vier Beine maximal von sich gestreckt, das Maul weit aufgesperrt, die Augen offen, mit großen, reflexlosen Pupillen. Die Atmung stand. Unter fort-

1) Nachdem mir in der letzten Zeit (nach Abschluß der Arbeit) ausgedehnte Färbungsstudien an Blut von Bleikranken die Unzuverlässigkeit der Giemsa-Methode gegenüber der einfachen Methylenblaufärbung (Löffler, Manson) gezeigt haben, möchte ich jetzt alle diese negativen Resultate etwas skeptisch beurteilen.

Versuchstage

gesetzter künstlicher Atmung durch rythmische Kompression des Thorax kam die Katze allmählich wieder zu sich, zeigte aber dann noch stundenlang Zeichen großer innerer Erregung.

111 Auf den Boden gesetzt, schreitet die Katze mit eigenartigem hahnentrittähnlichem Gange vorwärts, manchmal torkelt sie vor Schwäche und lehnt sich gern an Tischbeine an. Dabei besteht ein feinschlägiges, alle Gliedmaßen und den Rumpf in gleicher Weise beteiligendes Zittern, das früher nur unmittelbar nach den Anfällen bemerkt worden war.

113 In meiner Abwesenheit wiederholt sich der Krampfanfall, dem das Tier erliegt.

b) Gewichte.

Versuchstage	
47	2750 g
55	2800 g
62	2850 g
69	2930 g
76	3030 g
83	3020 g
90	3100 g
97	3080 g
101	3020 g
104	2920 g
108	2850 g
111	2690 g
113	2600 g.

c) Blutbefund.

Versuchstage

53 Keine basophilen Granula.

69 Keine basophilen Granula.

89 Eigenartige einzelliegende große blaue Granula (Giemsa) in vereinzelten Erythrozyten, den staubförmigen Körnelungen beim menschlichen Saturnismus nicht gleichend.

108 Die gleichen Gebilde, etwas zahlreicher. Herr Prof. Dr. L. R. Müller glaubt, daß sie immerhin durch die Vergiftung hervorgerufen sein könnten.

d) Bleiausscheidung.

Versuchstage	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
47 bis 51	36	68,5	375	0,7
52 „ 60	53	173,6	760	0,8
61 „ 66	—	—	515	0,6
83 „ 95	—	—	1000	2,0
110 „ 113	—	—	230	0,5.

Der letzte Urin wurde in einem besonderen Käfig aufgefangen, wobei jede Verunreinigung mit Kot ausgeschlossen war. Die Essigsäure-Kochprobe war schwach positiv.

e) Sektionsbefund.

Versuchstage

113 Abgemagertes Tier ohne Hautfett. Herz schlaff, stark mit Blut erfüllt. Alle Organe sehr blutreich. Im Magen Fleischballen, im Dünndarm wenig galliger Schleim, im Dickdarm wenig zäher, grünschwarzer Kot. Die Schleimhaut des ganzen Digestionstraktus ist frei von entzündlichen Veränderungen. Die Nierenkapsel ist gut abhebbar, die Rinde quillt jedoch auf dem Schnitt vor und erscheint getrübt, Pyramidenzeichnung verwaschen. Sonst o. B. — Kein deutlicher Bleisaum.

Diagnose: Parenchymatöse Nephritis.

f) Bleigehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Bleigehalt absolut mg	Bleigehalt in 1000 g mg
Dickdarminhalt	13,9	32,3	2324,3
Mageninhalt	46,0	13,4	291,3
Dünndarminhalt	8,8	1,0	113,6
Haut mit Haaren (64 qcm)	21,2	0,7	33,0
Halsorgane (mit Speiseröhre)	17,5	0,2	11,4
Dickdarm	15,1	2,4	159,1
2 Nieren	30,8	0,8	26,0
Leber mit Gallenblase	53,0	0,6	11,3
Milz	4,1	0,025	6,1
Blut	8,7	0,05	5,7
Magen	25,5	0,1	3,9
Dünndarm	61,2	0,2	3,3
Netz, Gekröse, Pankreas und Zwerchfell	60,2	0,1	1,6
Gehirn und Rückenmark	31,3	0,05	1,6
Lunge und Herz	39,5	0,05	1,3
Muskulatur von Rücken und Schenkel	74,6	0,1	1,3
Harnblase	4,5	0,0	0,0

Bleiversuch II.

Ältere, bösartige Katze.

a) Verlauf.

Versuchstage (1. III. 18)

0 Anlegung eines Gewöhnungsverbandes.

8 Auf dem Rücken wird eine Fläche von 10:12 cm mit dem Depilatorium enthaart.

13 Ätzwunden abgeheilt. Aufstreichen folgender Salbe auf eine Fläche von etwa 75 qcm:

Plumbi oleinici	10,0
Vaselini albi	12,0
Lanolini anhydrici	3,0

Verband und Mantel.

ff. Das Tier bleibt dauernd freßlustig und zeigt keinerlei auffallende Erscheinungen.

59 Tötung mit Chloroform; dann Abnahme des Verbandes. Dieser ist noch vollkommen dicht; Analyse der Außenschicht und der Ränder: 0,0 mg Pb. Die Haare sind über 1 cm nachgewachsen, aber noch fettig durchtränkt.

b) Gewichte.

Versuchstage	
0	2900 g
8	2940 g
13	2920 g
17	3010 g (abzüglich Verbandgewicht)
24	3050 g (,, ,,)
31	3060 g (,, ,,)
38	3050 g (,, ,,)
45	3000 g (,, ,,)
52	3040 g (,, ,,)
59	3020 g (,, ,,).

c) Blutbefund.

21	Keine basophilen Granula.
29	,, ,, ,,
45	,, ,, ,,
58	,, ,, ,,

d) Bleiausscheidung.

Versuchstage	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
9 bis 13	27	0,0	275	0,0
14 „ 19	28	0,3	420	0,4
20 „ 25	31	0,4	360	0,3
26 „ 32	52	0,7	400	0,4
54 „ 59	47	0,5	440	0,3

Versuchstage e) Sektionsbefund.

59 Gut genährtes Tier mit stellenweise 2 cm dickem Fettpolster. Alle Organe ohne pathol. Befund. Die Nieren von tadelloser Zeichnung. — Kein Bleisaum.

f) Bleigehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Bleigehalt absolut mg	Bleigehalt in 1000 g mg
Magendarmkanal mit Inhalt	134,3	0,15	1,1
Leber mit Gallenblase	109,1	0,05	0,5
Nieren und Milz	27,2	0,0	0,0
Lungen und Trachea	56,7	0,0	0,0
Gehirn und Rückenmark	34,8	0,0	0,0
Muskulatur	61,2	0,0	0,0
Nicht eingeriebene Haut (56 qcm)	17,2	0,0	0,0
Eingeriebene Haut (100 qcm)	32,4		
nach Reinigung mit Äther		8,0	246,9
nach Reinigung mit heißer verdünnter Salpetersäure		1,0	30,9

(7,0 mg Pb gehen in die Waschflüssigkeit über.)

Bleiversuch III.

Jüngerer, aber ausgewachsener, bösartiger Kater.

Unter dem rechten Auge hat das Tier eine eiternde Bißwunde, die während der ganzen Versuchsdauer nicht ausheilt.

Versuchstage (13. V. 18) a) Verlauf.

0 Gewöhnungsverband.

14 Rücken und Flanken werden in einer Ausdehnung von 12:14 cm mit dem Depilatorium enthaart. Die Haut wird nicht unerheblich angeätzt.

27 Ätzwunden verheilt, aber Haare wieder gut ½ cm nachgewachsen. Deshalb Schur bis auf ½ mm Haarlänge. Folgende Salbe wird 10 min lang in eine Hautfläche von etwa 120 qcm eingeknetet:

Plumbi oleinici 20,0
Vaselini albi . . . . 20,0.

Verband wie gewöhnlich, Mantel.

ff. Der Mantel wird alle Tage abgenommen und der Rücken durch den Verband hindurch 10 min lang massiert.

38 Von der Wunde unter dem Auge ausgehend hat sich ein Wangenabszeß gebildet; daher Mattigkeit und Fieber (anal 38,8° C). Eröffnung des Abszesses nach außen und innen, die Krankheitserscheinungen gehen daraufhin zurück. Der verminderte Appetit kehrt wieder.

ff. Das Tier bleibt dauernd bei Wohlbefinden, ohne auffallende Symptome.

74 Verblutungstod durch Schnitt in den Hals; das Blut wird in einer Porzellanschale aufgefangen, der Körper, Kopf nach unten, möglichst blutleer gepreßt. Abnahme des Verbandes. Die Salbe ist trotz der Massage nicht über die Gelatinefolienschicht hinausgedrungen; Analyse der Außen-

und Randschicht: 0,0 mg Blei. Die Haare sind über 1 cm nachgewachsen und haben die Hauptmasse der Salbe in Form schmieriger Lamellen abgehoben.

b) Gewichte.

Versuchstage		
0	2630 g	
14	2670 g	
27	2670 g	
34	2620 g	(abzüglich Verbandgewicht)
41	2550 g	(,, ,,)
48	2580 g	(,, ,,)
55	2580 g	(,, ,,)
62	2560 g	(,, ,,)
69	2590 g	(,, ,,)
74	2600 g	(,, ,,).

c) Blutbefund.

27 Keine basophilen Granula.
55 ,, ,, ,,
73 ,, ,, ,,

d) Bleiausscheidung.

	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
20 bis 27	67	0,0	580	0,0
28 ,, 37	103	1,1	1210	0,8
38 ,, 55	109	1,0	1520	0,6
56 ,, 68	111	0,5	1070	0,6
69 ,, 74	32	0,3	330	0,2

Versuchstage

e) Sektionsbefund.

74 Mäßiger Fettgehalt im Netz, geringer im Unterhautzellgewebe. Alle Organe sehr anämisch. Lunge rein weiß, lufthaltig, im rechten Mittellappen eine kleine frische Blutung. Herz ganz schlaff, blutleer. Magen fast leer, kontrahiert, im Dünndarm wenig galliger Schleim, keine entzündlichen Veränderungen. Im Dickdarm wenig zäher grünschwarzer Kot. Leber hellbraungelb, mit scharf hervortretenden Blutpunkten. Nieren mit auffallend deutlicher Pyramidenzeichnung, von normaler Größe, Kapsel leicht abziehbar. — Kein Bleisaum.

Mikroskopisch zeigt die Leber um die Zentralvenen herum ganz frische Hämorrhagien, sicherlich von dem gewaltsamen Ausbluten des Körpers herrührend.

In einem in Schwefelammonium eingelegten Schnitt durch die eingeriebene Haut ist die Hornschicht gleichmäßig hellbraun gefärbt (durch die Gewebskolloide in Lösung erhaltenes Bleisulfid), die tieferen Schichten — von den Chromatophoren abgesehen — farblos. Bräunliche Massen finden sich in den Haarbälgen und den frei mündenden Talgdrüsenausführungsgängen, immer nur bis zu geringer Tiefe.

Hämatoxylin-Eosinfärbung: Alle Hautschichten sind wohl erhalten.

f) Bleigehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Bleigehalt absolut mg	Bleigehalt in 1000 g mg
Eingeriebene Haut (50 qcm)	17,1		
(mit Äther allein gereinigt)		6,1	356,7
Nicht eingeriebene Haut (150 qcm)	56,8	0,025	0,4
Dickdarm samt Inhalt	18,2	0,1	5,5
Leber mit Gallenblase	132,4	0,25	1,9
Nieren, Milz und Harnblase	34,1	0,05	1,5
Brust- und Halsorgane	68,9	0,05	0,7

Organ	Gewicht g	Bleigehalt absolut mg	Bleigehalt in 1000 g mg
Dünndarm samt Inhalt	82,0	0,05	0,6
Gehirn und Rückenmark	44,0	0,025	0,6
Blut	143,8	0,025	0,2
Muskulatur	149,3	0,025	0,2
Zwerchfell und Netz	53,2	0,0	0,0
Magen samt Inhalt	30,7	0,0	0,0

Bleiversuch IV.

Ältere, gutmütige Katze.

Das Tier leidet schon bei Versuchsbeginn an einem Nasenkatarrh; aus der l. Nasenöffnung fließt schleimig-eitriges Sekret. Die Katze niest häufig und hustet auch ab und zu; im übrigen ist sie munter und bei gutem Appetit.

Versuchstage (15. V. 18)

a) Verlauf.

0 Gewöhnungsverband.

7 Rücken und Flanken werden in einer Ausdehnung von 12:15 cm ohne Hautverletzung auf ½ mm Haarlänge geschoren, sodann folgende Salbe noch warm in eine Hautfläche von etwa 150 qcm 10 min lang eingeknetet:

Plumbi oleinici	25,0
Vaselini albi	20,0
Lanolini anhydrici	5,0.

Üblicher Verband und Mantel.

ff. Der Mantel wird täglich abgenommen und Rücken und Flanken durch den Verband hindurch 10 min lang massiert.

Die Katze trippelt im Stehen fortwährend mit den Vorderpfoten, was sich als Folge zu knapper Ausschnitte im Mantel herausstellt. Nach Erweiterung derselben hört auch das Trippeln auf.

14 Freßlust nimmt ab.

20 Die Katze ist sehr hinfällig geworden. Nervöse Symptome wurden nicht mehr konstatiert, vor allem ist das Tier stets äußerst zutraulich.

21 Rohes Fleisch wird gleich nach dem Fressen wieder erbrochen.

22 Die Katze kann sich nicht mehr erheben. Nachmittags erfolgt unter zunehmendem Röcheln der Tod. Abnahme des vollkommen dicht gebliebenen Verbandes. Die Haare sind nur 2 bis 3 mm nachgewachsen; die Salbe liegt noch als klebrige Masse an. Analyse der Außenschichten: 0,0 mg Pb.

b) Gewichte.

Versuchstage		
0	3260 g	
5	3180 g	(abzüglich Verbandgewicht)
7	3130 g	
11	3050 g	(,, ,,)
15	2990 g	(,, ,,)
18	2920 g	(,, ,,)
20	2720 g	(,, ,,)
22	2610 g	(,, ,,).

c) Blutbefund.

20 Keine basophilen Granula.

d) Bleiausscheidung.

	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
2 bis 7	53	0,0	910	0,0
8 ,, 9	20	0,3	165	0,2
10 ,, 16	58	0,7	520	0,3
17 ,, 22	22	0,1	325	0,2

21 Erbrochenes: 53,3 g enthält 0,0 mg Pb.

e) Sektionsbefund.

Abgemagertes Tier ohne Hautfett und mit ganz spärlichen Fettmengen im Netz. Um Nase und Maul eintrocknende Reste einer bräunlichen Flüssigkeit. Auch die Zunge ist mit schleimiger, schwarzbrauner Flüssigkeit bedeckt. Speiseröhrenwand glatt und blaß, mit wenig schwärzlicher Flüssigkeit bedeckt; Magen stark kontrahiert, an der Kardia ein Kranz feinster Blutaustritte (Stauung?), mit wenigen ccm eines übelriechenden grünschwarzen (galligen) Schleims erfüllt. Dünn- und Dickdarm o. B.; letzterer enthält noch etwas zähen schwarzen Kot. Leber, Milz, Nieren sehr blutreich, sonst o. B. Blase enthält etwa 25 ccm Harn.

Trachealschleimhaut rosa, sammetartig; das Lumen ist mit gelbem Schleim erfüllt, der im Kehlkopf in die vom Magen kommende schwarze Flüssigkeit übergeht. Linke Lunge rosa und fast durchweg lufthaltig; von den rechten Lappen weist der obere zahlreiche dunkelrote eingesunkene Stellen auf; im Mittel- und Unterlappen konfluieren diese und lassen zwischen sich nur kleine lufthaltige Stellen frei, welche stark hervortretendes vikariierendes Emphysem, zumal Randemphysem zeigen. Die Bronchien sind hier dick mit Eiter erfüllt, der bei Druck aus den angeschnittenen Lumina hervorquillt.

Herz kontrahiert und mit wenig Blut erfüllt.

Mikroskopisch zeigt die Lunge (rechter Mittellappen) das Bild starker eitriger Bronchitis und Peribronchitis ohne Anzeigen von Tuberkulose (Herr Geheimrat M. B. Schmidt). Alveoläres Ödem.

Diagnose: Eitrige Bronchitis, Emphysem mit konsekutiver Stauung (Lungenödem und venöse Hyperämie der Unterleibsorgane).

Ein in Schwefelammon eingelegter Gefrierschnitt durch die eingeriebene Haut liefert das nämliche Bild wie in Versuch III; ebenso ist auch hier die Hautstruktur intakt geblieben.

f) Bleigehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Bleigehalt absolut mg	Bleigehalt in 1000 g mg
Eingeriebene Haut (88 qcm) (nur mit Äther gereinigt)	27,9	8,3	297,5
Nicht eingeriebene Haut (128 qcm)	41,3	0,025	0,6
Dickdarm mit Inhalt	18,1	0,15	8,3
Leber mit Gallenblase	71,6	0,35	4,9
2 Nieren	22,8	0,1	4,4
Blase mit Harn	26,3	0,025	1,0
Netz, Pankreas, Zwerchfell und Mesenterium	50,4	0,05	1,0
Dünndarm mit Inhalt	57,2	0,05	0,9
Gehirn und Rückenmark	32,4	0,025	0,8
Magen und Speiseröhre mit Inhalt	36,7	0,05	0,7
Brustorgane und Trachea	69,1	0,05	0,7
Muskulatur	38,7	0,025	0,6
Milz	3,5	0,0	0,0.

Überblicken wir die Ergebnisse der geschilderten 4 Versuche gemeinsam, so sehen wir zunächst, daß unsern theoretischen Erwägungen entsprechend die Hornschicht der Haut eine diffuse Durchtränkung mit der bleihaltigen Salbe erfahren hat. Diesem mikroskopischen Befund der Versuche III und IV entspricht die chemische Analyse, welche bei den Katzen II bis IV noch einen Gehalt von 0,08 bis 0,12 mg Blei im qcm der mit Äther gründlich gereinigten Haut aufdeckte. Daß dieses Blei allerdings nur in den obersten Epidermisschichten sitzt, läßt sich dadurch erhärten, daß man es durch Abreiben mit Watte, die mit heißer Salpetersäure ge-

tränkt ist, und nachheriges Abspülen mit Wasser zu $^{7}/_{8}$ entfernen kann (Versuch II); ich möchte also nicht wie Vogt und Burckhardt schon in der bloßen Tatsache des verhältnismäßig hohen Bleigehalts der eingeriebenen Haut einen Beweis für eine wirkliche Permeation des Bleis erblicken. Dieser Beweis kann jedoch leicht erbracht werden durch die Analyse der Ausscheidungen und des Tierkörpers.

In Versuch I sollte ermittelt werden, wie lange und wie viel Blei noch nach Entfernung der Salbe vom Körper nach außen abgeschieden wird; nachdem sich aber in den folgenden Versuchen gezeigt hat, daß auch die gereinigte Haut noch Bleimengen von etlichen Milligrammen in ihren oberflächlichen Schichten einschließt, von denen ein Teil höchstwahrscheinlich noch in den Körper gelangt, erscheint es mir fraglich, ob die in dieser 22tägigen Nachversuchszeit ausgeschiedenen 0,75 mg gespeichertes Blei darstellen, das schon in der Verbandperiode aufgenommen wurde. Möglicherweise ist die bis zum Ende der Beobachtung (46. Tag) ganz konstant bleibende Ausscheidung von 0,025 mg im Tagesdurchschnitt auf Rechnung der nachträglichen Resorption zu setzen und nur die anfängliche Plusdifferenz gegen diesen Wert von insgesamt 0,2 mg schon während der Verbandperiode resorbiert worden. Auf alle Fälle wird man also die Ausscheidungszahlen in letzterer von 0,6 mg (Kot) und 0,7 mg (Urin) auf mindestens 0,7 und 0,8 mg zu erhöhen haben.

Im allgemeinen ist die Bleispeicherung im Körper recht gering. Von den Verbandversuchen war sie bei dem kurzdauernden Versuch IV noch am größten (50% des ausgeschiedenen Bleis); bei dem Fütterungsversuch I, 2 betrug sie trotz der reichlichen oralen Bleiaufnahme nur 4,5 mg. Ich bin mir dabei wohl bewußt, daß der tatsächliche Bleireichtum des Körpers größer ist als die gefundenen Zahlen angeben, da ja nur ein geringer Teil des Körpers wirklich durchanalysiert wird; insofern dieser Fehler sich aber überall gleichmäßig wiederholt, bleibt der Vergleichswert der Zahlen erhalten. Eine Umrechnung des Muskelgehaltes auf den ganzen Körper und Addition dieser errechneten zur wirklich gefundenen Metallmenge (nach dem Vorgange Ullmanns) habe ich in Anbetracht der Möglichkeit der Vervielfachung von Analysenungenauigkeiten nicht vorgenommen, zumal bei der Geringfügigkeit der Bleispeicherung für die Ermittelung der Permeabilitätsgröße der Bleigehalt der Ausscheidungen und nicht der des Körpers von ausschlaggebendem Einflusse ist. Immerhin muß darüber Klarheit sein, daß die gefundenen Permeabilitätswerte Minimalzahlen sind; die tatsächliche Bleiaufnahme mag um ein geringes größer sein. Folgende Tabelle, die meiner vorläufigen Mitteilung entnommen ist, stellt die Analysenresultate noch einmal summarisch zusammen:

Berechnung der Bleiaufnahme im Tagesdurchschnitt.

Katze Nr.	Appliziert wurden	Wirkungsfläche etwa	Einwirkungsdauer	Gefundene Bleimengen				Bleiaufn. im Tagesdurchschnitt mg
				im Kot mg	i. Harn mg	im Körper mg	zusammen mg	
		qcm	Tage					
I	5 g Bleioxyd aufgelegt	50	17	0,7	0,8	?	> 1,5	> 0,09
II	10 g Bleioleat „	75	19	1,4	1,1	0,2	2,7	0,14
III	20 g „ eingerieben	120	57	2,9	2,2	0,6	5,7	0,12
IV	25 g „ „	150	15	1,1	0,7	0,9	2,7	0,18

Es erhellt daraus, daß im täglichen Durchschnitt 1 bis 2 Zehntelmilligramme Blei durch die Haut in den Körper eindrangen; bei dem langdauernden Versuch III konnte man ein allmähliches Absinken der Bleiausscheidung bemerken, was sicherlich der Ausdruck einer durch das Abheben der Salbenmasse bedingten Abnahme der Bleiresorption ist.

Um die ermittelte Intensität des Bleidurchtritts mit Ergebnissen anderer Versuche, sei es an anderen Tieren oder mit andersartiger Applikation, vergleichen zu können, ist es nötig, die absoluten Mengen auf die Einheit der Resorptionsfläche zurückzuführen; denn selbstverständlich wird von einer ausgedehnteren Hautpartie mehr resorbiert als von einer kleineren. Ich habe deshalb die Substanzmenge, die im Tagesdurchschnitt einer Versuchsperiode durch 1 qdm Hautfläche permeiert, als mittlere Permeabilitätsgröße bezeichnet. Dieser Wert, erhalten durch Multiplikation des Tagesdurchschnitts der Aufnahme mit $\frac{100}{\text{qcm Fläche}}$, ist

in Versuch I:	0,18 mg	Blei,
II:	0,19 „	„
III:	0,10 „	„
IV:	0,12 „	„

Die Zahlen sind von derselben Größenordnung und nicht allzuweit voneinander entfernt; die Schwankungen mögen zum Teil aus Verschiedenheiten der Versuchsdurchführung stammen, zum Teil aber auch durch individuelle Unterschiede in der Hautbeschaffenheit zu erklären sein.

Interessant ist die Tatsache, daß die mittlere Permeabilitätsgröße in den Massageversuchen III und IV kleiner gefunden wurde als in den beiden vorhergehenden, in welchen die Salbe nur aufgestrichen wurde. Es handelt sich dabei ganz sicherlich um Einflüsse, die mit dem Vorgang der Massage nicht in Beziehung stehen; jedenfalls aber wurden die Durchschnittswerte der Resorption durch die Einreibung nicht erhöht.

Das mit tierischem Fett zur Salbe vermengte Bleioxyd gelangte im selben Maße zur Aufsaugung wie das fertig gebildete ölsaure Salz.

Eine Berechnung der mittleren Permeabilitätsgröße für den Durchschnitt aller 4 Versuche ergibt, wenn *pb* die gefundene Bleimenge, *fl* die Wirkungsfläche in qcm und *d* die Anzahl der Versuchstage bedeutet:

$$\text{M.P.-Gr. (I—IV)} = \left(\frac{pb_{\text{I}} \cdot 100}{fl_{\text{I}}} + \frac{pb_{\text{II}} \cdot 100}{fl_{\text{II}}} + \frac{pb_{\text{III}} \cdot 100}{fl_{\text{III}}} + \frac{pb_{\text{IV}} \cdot 100}{fl_{\text{IV}}}\right) : (d_{\text{I}} + d_{\text{II}} + d_{\text{III}} + d_{\text{IV}}) = 0{,}14 \text{ mg Blei},$$

eine Zahl, die hinter den Werten von Vogt und Burckhardt, wenn man den Versuch macht, die von ihnen ermittelten Permeabilitätsgrößen zu bestimmen, zum mindesten um das 50fache zurückbleibt.

Von großem Interesse ist die Frage, ob einer Bleiaufnahme, wie sie in meinen Versuchen vorliegt, toxikologische Bedeutung zukommt.

Über die Minimalintensität der Bleiresorption, die zu einer chronischen Vergiftung von Katzen nötig ist, lassen sich zwar aus der Literatur sichere Aufschlüsse noch nicht gewinnen; soviel ist aber gewiß, daß die hier aufgenommenen Bleimengen höchstens eine eminent chronische Vergiftung hervorzubringen imstande wären, nicht aber innerhalb der beschränkten Zeitdauer eines Einreibungsversuches Bleisymptome zu zeitigen vermöchten.

Dem entspricht das Befinden der Katzen während der ganzen Versuchszeit, in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Tanquerel, Monnereau und Brezina und Eugling. Daß in meinen Verbandversuchen keine basophilen Granulationen in den roten Blutkörperchen gefunden wurden, braucht noch keinen Widerspruch zu den Befunden von Brezina und Eugling zu enthalten, da sich die Reaktionsfähigkeit des hämatopoetischen Apparates der Katzen und Meerschweinchen wohl nicht unmittelbar vergleichen läßt und außerdem in den Versuchen der Wiener Autoren das Verhältnis der eingeriebenen Hautfläche zum Körpergewicht möglicherweise größer war als bei mir[1]).

Um einen Vergleich der fettigen Applikationsweise mit der Anwendung wässeriger Lösungen zu gewinnen, wurden zwei weitere Experimente nach Art der Schwenkenbecherschen Badeversuche angestellt.

Bleiversuch V.

Männliches Meerschweinchen, 350 g schwer.

Der Versuch begann damit, daß dem Tiere einen Tag lang die Nahrung entzogen wurde, um die Urinsekretion auf ein Mindestmaß einzuschränken. Dann wurde um den Hals und die vorderen Extremitäten — die letzteren in sich bergend — aus Watte und Binden ein sich weit aufbauschender und endlich durch Gips versteifter Kragen gelegt. Abbinden des Penis, Überkleben desselben wie auch des Afters mit Wachs und Kollodium. Nun wurde der Tierkörper, soweit es der Kragen erlaubte, durch eine kreisförmige Aussägung (Durchmesser 6,5 cm) eines Brettchens gezogen, dann die Hinterfüße in einer Schlinge zusammengeknotet und an ein eisernes 500 g-Gewicht festgebunden.

Inzwischen war ein dickwandiges, zylindrisches Standgefäß mit einer 37° warmen, gesättigten wässerigen Lösung von ölsaurem Blei gefüllt worden. (Die Lösung enthielt in 50 ccm 17,9 mg Blei, was einem Gehalt von 1,33 g Bleioleat in 1 l entspricht.)

In dieses, am Boden mit Watte ausgeschlagene Gefäß wurde das Meerschweinchen so eingesenkt, daß der Holzkragen quer über den oberen Rand herüberlag und das Eisengewicht gleichzeitig unten aufstand, ohne einen stärkeren Zug an den Beinen des Tieres auszuüben. Dieses war aber so vollkommen außerstande, irgendwelche Bewegungen auszuführen. Die mit der Versuchslösung in Berührung stehende Hautoberfläche maß etwa 160 qcm. Das Glas wurde, nachdem der Holzdeckel noch durch einige Verschnürungen gesichert worden war, in den auf 41° C gebrachten Brutschrank eingestellt, dessen Türe ein wenig offen blieb.

Nach 30 h wurde das Meerschweinchen mit Chloroform getötet, mit Wasser abgespült, vorsichtig abgebalgt, der Körper nochmals nachgespült und dann in toto analysiert. Bleigehalt: 0,1 mg.

Ein in Schwefelammon eingelegter Hautschnitt zeigte eine deutliche gelbbraune Verfärbung der dünnen Hornschicht.

---

1) Vgl. auch die Anmerkung auf S. 212.

Bleiversuch VI.

Männliches Meerschweinchen, Gewicht 365 g.

Der Versuch wurde in gleicher Weise vorgenommen wie Versuch V, nur daß die Lösung des ölsauren Bleis durch eine solche von neutralem Bleiazetat ersetzt war. (50 ccm enthielten 26,3 mg Blei, entsprechend einer fast 1 promilligen Bleizuckerlösung.)

Bleigehalt des Körpers: 0,05 mg.

Gleichfalls deutliche Gelbbraunfärbung der Hornschicht im mit Schwefelammon behandelten Hautschnitt.

Kontrollversuche.

Zwei Meerschweinchenkörper aus dem gleichen Stall, unbehandelt (die Tiere waren zur Blutentnahme für die Wassermannsche Reaktion verwendet worden), enthalten 0,0 mg Blei.

Als Ergebnis der beiden Meerschweinchenversuche ist zu buchen, daß trotz der diffusen Durchtränkung der Hornschicht (eine Analyse der Bälge ist leider unterblieben) die Permeation ins Körperinnere eine recht verschwindende war.

Die mittlere Permeabilitätsgröße von

$$\text{Versuch V betrug: } \frac{0{,}1 \cdot 100}{1{,}25 \cdot 160} = 0{,}05 \text{ mg Blei,}$$

von Versuch VI nur: 0,025 mg Blei,

d. h. nur $^1/_3$ bis $^1/_6$ des aus den Katzenverbandversuchen errechneten Durchschnittswertes.

Die Ursache dieser geringen Aufnahme sogar des ölsauren Bleis, bei welchem doch eine Resorptionsverzögerung durch vorhergehende Umsetzung mit den Fettsäuren des Hauttalges in Wegfall kommt, darf wohl in der niedrigen Konzentration wie auch in der relativ kurzen Einwirkungsdauer gesucht werden; denn es wird, wie schon im theoretischen Teil hervorgehoben wurde, naturgemäß geraume Zeit vergehen, bis die Lösung erst einmal die Hornschicht zur Quellung gebracht hat. Übrigens macht sich der Unterschied zwischen dem Oleat und dem fettunlöslichen Azetat auch bei den minimalen absoluten Mengen bemerkbar.

Als Abschluß der Bleiversuche führte ich noch einen quantitativen Selbstversuch an mir durch, dessen Protokoll nachstehend wiedergegeben wird.

Bleiversuch VII. (Selbstversuch.)

Versuchstage (20. X. 18)

a) Verlauf.

0 Von heute ab werden Stuhl und Harn quantitativ gesammelt und auf ihren Bleigehalt untersucht.

4 Prüfung der Hautsensibilität der Waden, sowie der Reizschwelle für elektrische Erregung der Wadenmuskulatur durch Herrn Geheimrat M. v. Frey:

Mechanische Schwelle für Oberflächenschmerz über dem M. tibialis anterior:

L. und R.: Stachelborste 300.

Schwelle für Gleichstrom:

L. Peronaeus longus: bei 23 Elementen Kathodenschließungszuckung (KSZ), 8 Milli-A.

Tibialis anterior: bei 22 El. KSZ, 6 MA.

R. Peronaeus longus: bei 18 El. KSZ, 9 MA.

Tibialis anterior: bei 17 El. KSZ, 6 MA.

Versuchstage

5 In die Haut der rechten Wade wird folgende Salbe 10 min lang in noch warmem Zustande eingeknetet:

Plumbi oleinici	50,0
Vaselini albi	25,0
Lanolini anhydrici	25,0.

Die salbenbedeckte Fläche mißt 450 qcm. Darüber Kompressen, Watte, Billrothbattist, dessen freie Ränder miteinander und mit der nackten Haut durch Kollodium verklebt werden, nochmals Watte, Bindentouren und darüber ein enganliegender, bis übers Knie reichender Trikotstrumpf, der während der ganzen Dauer des Versuchs liegen bleibt. Durch den Strumpf hindurch wird die Wade täglich 10 min lang massiert.

ff. Dauernd vollkommenes Wohlbefinden. Der Verband wird unter dem Beinkleid von Unbefangenen nicht bemerkt und hindert beim Gehen und Arbeiten in keiner Weise. An das anfänglich unangenehme klebrige Gefühl erfolgt rasche Gewöhnung.

26 Abnahme des Verbandes. Der ganze Trikotstrumpf wird verbrannt und analysiert; Bleigehalt: 0,0 mg Pb. Der Billrothbattist liegt der Haut noch gut an; nur an einzelnen Stellen hat sich die Kollodiumverklebung von der Haut gelöst. Die Salbe bedeckt die Haut noch vollkommen; nach ihrer Entfernung mit Benzin und Seifenwasser zeigt letztere außer einer kleinlamellösen Abschuppung nichts Auffallendes, keine Rötung, keine Rhagaden.

Nochmalige physiologische Prüfung durch Herrn Geheimrat v. Frey:

Mechanische Schwelle für Oberflächenschmerz über dem M. tibialis anterior:

L. und R.: Stachelborste 300.

Schwelle für Gleichstrom:

L. Peronaeus longus: bei 22 El. KSZ, 7 MA.
Tibialis anterior: bei 21 El. KSZ, 6 MA.
R. Peronaeus longus: bei 20 El. KSZ, 8 MA.
Tibialis anterior: bei 19 El. KSZ, 7 MA.

36 Die Untersuchung von Harn und Stuhl wird eingestellt. Ende des Versuchs.

Versuchstage b) Blutbefund.

Versuchstage	
7	Keine basophilen Granula.
16	,, ,, ,,
26	,, ,, ,,
36	,, ,, ,,

c) Bleiausscheidung.

	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
0	246	1,0	3010	0,2
1	198	0,6	2740	0,25
2	280	112,7!	3425	0,2
3	223	1,3	3570	0,3
4	175	0,9	2320	0,15
5	270	0,7	2580	0,2
6	187	1,0	3030	0,3
7	330	0,6	2740	0,3
8	174	0,6	2880	0,3
9	135	0,8	2530	0,2
10	465	0,8	3620	0,2
11	272	0,4	2845	0,2
12	220	0,5	2550	0,2
13	326	0,5	4350	0,25
14	215	0,4	2800	0,2

Versuchstage	Kot g	Pb mg	Urin ccm	Pb mg
15	244	0,6	1150	0,15
16	185	0,4	2800	0,2
17	220	0,5	3010	0,2
18	132	0,4	3020	0,2
19	—	—	1740	0,15
20	372	0,6	2965	0,2
21	174	0,5	2730	0,2
22	—	—	3615	0,2
23	259	0,9	3750	0,2
24	228	0,4	3225	0,2
25	235	0,4	3550	0,2
26	145	0,3	2840	0,15
27	227	0,4	3180	0,2
28	190	0,3	2675	0,15
29	280	0,4	3180	0,2
30	265	0,3	3000	0,15
31	325	0,4	3315	0,15
32	205	0,3	2580	0,1
33	190	0,2	2325	0,15
34	222	0,2	3055	0,15
35	—	—	1875	0,1
36	410	0,2	2680	0,05

Betrachten wir diese Ausscheidungszahlen mit kritischem Auge, so fällt zunächst auf, daß schon in der Vorperiode des Versuchs, zur Zeit also, wo noch kein Bleiverband getragen wurde, erhebliche Bleimengen im Kot und Harn erscheinen. Besonders merkwürdig ist der ganz aus dem Rahmen fallende Bleigehalt des Stuhles vom 2. Versuchstage. Die Bleianalysen der Vorperiode wurden, da auf einen positiven Bleibefund gar nicht gerechnet wurde, erst zu Ende geführt, als der Verband schon angelegt war; sonst hätte ich unter diesen Umständen den Versuch wahrscheinlich gar nicht begonnen. Ich glaube aber jetzt und werde es klarzulegen trachten, daß, was zunächst jedes Versuchsergebnis zu vereiteln schien, gerade zu einem guten Gelingen des Experimentes beigetragen hat.

Worauf die Bleizahlen der Vorperiode zurückzuführen sind, wurde mir klar, als ich den enormen Wert von 112,7 mg entdeckte.

Ich pflegte nämlich damals am Tische einer Jägerfamilie zu speisen, wo fast alle Tage Wild, meistens in essigsaurer Zubereitung, aufgetragen wurde. Daß die Kochgeschirre der Familie kein Blei enthielten, davon hatte ich mich überzeugt; an eine andere, so naheliegende Bleiquelle aber hatte ich nicht gedacht — an die Schrote! Es scheinen aber — besondere Feststellungen müßten das noch bestätigen — bei der Zubereitung schrothaltigen Wildes kleine Bleimengen gelöst zu werden und in die Speisen überzugehen. Der hohe Bleigehalt des fraglichen Stuhles hat außer allem Zweifel seine Ursache in einem verschluckten Schrotsplitter. Als mir dieser Umstand klar geworden war (am 7. Versuchstage), habe ich — denn abbrechen wollte ich den Versuch nun doch nicht mehr — die Wildbretkost sofort aufgegeben und nur von Vegetabilien, Eiern und solchem Fleisch gelebt, bei dem ein Bleigehalt nicht anzunehmen war. (Die

in jener Familie übliche starke Würzung aller Speisen, die großen Durst im Gefolge hatte, erklärt übrigens die erheblichen Urinmengen.)

Zu einem besseren Überblick ist es zweckmäßig, den ganzen Versuchsverlauf in 7 Perioden einzuteilen: die Vorperiode (mit Auslassung des zweiten Tages mit seiner störend großen Bleiausscheidung), 4 Hauptversuchszeiten mit zweimal 5 und zweimal 6 Tagen und 2 Nachperioden mit je 5 Tagen. In der Ausscheidungstabelle sind die Einzelperioden durch größere Abstände kenntlich gemacht. Die Stuhl- und Urinausscheidung zusammenfassend, erhalten wir folgende Summationswerte:

Periode	Tage	Gesamtbleiausscheidung
Vorperiode	4	4,7 mg
Hauptperiode I	5	4,0 ,,
,, II	5	3,65 ,,
,, III	6	3,6 ,,
,, IV	6	3,65 ,,
Nachperiode I	5	2,65 ,,
,, II	5	1,45 ,,

Durch Division der Ausscheidungszahlen mit der Anzahl der Tage erhalten wir als

Bleiausscheidung im Tagesdurchschnitt

für die Vorperiode	1,18 mg
Hauptperiode I	0,8 ,,
,, II	0,73 ,,
,, III	0,60 ,,
,, IV	0,61 ,,
Nachperiode I	0,53 ,,
,, II	0,29 ,, .

Man sieht, daß ein langsames Absinken der Bleiausscheidung gegen das Versuchsende hin stattfindet; nur einmal — in den Hauptversuchszeiten III und IV — bleibt sie auf konstanter Höhe. Ich glaube, daß folgende Erklärung dieser Erscheinung viel Wahrscheinlichkeit für sich hat.

Die lange Zeit fortgesetzte orale Bleiaufnahme hatte zu einer gewissen (in Ansehung der Katzenversuche wohl nicht erheblichen) Bleiaufspeicherung im Körper geführt. Nach Aufhören der digestiven Zufuhr verminderten sich die Bleidepots des Körpers soweit, als dem geringeren Nachstrom von der Haut aus entsprach. In der dritten Hauptperiode ist der Gleichgewichtszustand zwischen Resorption, Kapazität der Bleidepots und Ausscheidung erreicht. Nach dem Versiegen auch der kutanen Bleiquelle sinkt die Bleiausscheidung infolge der allmählichen Entleerung der Bleispeicher in wenigen Tagen auf immer niedrigere Werte.

Darnach wären wir in der Lage, auch ohne den Bleigehalt des Körpers zu kennen, die Hautresorptionsgröße des Bleis zu bestimmen: sie muß in der Zeit des konstanten Bleistroms, also in der zweiten Hälfte des Hauptversuchs, gleich gewesen sein der gesamten Bleiausscheidung, d. h. die Bleiaufnahme im Tagesdurchschnitt = 0,6 mg Pb.

Daraus berechnet sich bei 450 qcm Wirkungsfläche die mittlere Permeabilitätsgröße am Menschen

auf 0,133 mg Pb,

einen Wert also, der dem Mittel der Katzenversuche vollkommen entspricht.

Wir dürfen daraus entnehmen, daß zwischen der Haut der Katze und der des Menschen ein wesentlicher Unterschied im resorptiven Verhalten nicht besteht, daß also an der Katze gewonnene Ergebnisse mit gutem Rechte auf den Menschen übertragen werden können.

Zum Schluß ist die Frage zu erwägen, ob die durch die Haut aufgenommenen Bleimengen eine chronische Vergiftung des Menschen hervorzubringen imstande sind. Gärtner hat (nach K. B. Lehmanns Gewerbehygiene, S. 203) berechnet, daß 0,35 mg Blei, täglich oral aufgenommen (doch dürften diese kleinen Mengen ziemlich vollständig resorbiert werden), unschädlich sind, bei 4 mg machen sich Anzeigen einer Vergiftung nach einigen Monaten bemerkbar. Demnach dürfte bei einer täglichen Aufnahme von 0,6 mg Pb eine Gesundheitsschädigung auch noch nicht zu erwarten sein; ich möchte nach den Erfahrungen der Vorperiode des vorliegenden Versuches glauben, daß man für sonst gesunde Personen die Schwellendosis des Bleis sogar noch ein wenig höher ansetzen kann. Da aber in der gewerbehygienischen Praxis so günstige Resorptionsbedingungen wie in diesem Versuche niemals vorliegen werden, so darf hiermit die Frage nach der Möglichkeit gewerblicher Bleivergiftungen durch Hautresorption als nach der negativen Seite hin experimentell entschieden betrachtet werden.

V. Ergebnisse experimenteller Studien über die perkutane Resorption des Quecksilbers.

Alle bisherigen Arbeiten, welche auf dem Wege des Versuchs eine Lösung der Frage nach der Hautpermeabilität für Quecksilber erstrebten, konzentrieren sich um das Problem der Wirksamkeit der grauen Salbe. Wenn ja einmal einzelne Autoren zum Vergleiche oder aus gewissen experimentellen Rücksichten heraus andere quecksilberhaltige Substanzen auf die Haut brachten, so blieb die Grundfrage doch immer dieselbe. Freilich treten auch oder traten wenigstens vor der allgemeineren Einführung der Injektionstherapie der Syphilis alle Verhältnisse, unter denen praktisch eine Quecksilberresorption durch die Haut hindurch in Frage kam, der Schmierkur gegenüber an Bedeutung erheblich zurück.

Seit Kirchgässer auf die Möglichkeit einer inhalatorischen Aufnahme des auf der Haut verdampfenden Quecksilbers mit Nachdruck hingewiesen hat, haben die Bemühungen vor allem der Dermatologen, über das Verhältnis der Lungenresorption zur Hautaufnahme ins klare zu kommen, kein Ende gefunden. Daß Quecksilberdämpfe in bedeutendem Maße

auf dem Atemwege in den Körper gelangen, wurde bald einwandfrei erwiesen (Friedr. Müller); einen gewissen Abschluß haben diese Untersuchungen durch die Kaninchenexperimente von Kißkalt gefunden, durch welche der Nachweis erbracht wurde, daß die eingeatmeten Quecksilberdämpfe quantitativ in der Lunge festgehalten werden.

Größere Schwierigkeiten stellten sich den Forschungen über die Tatsächlichkeit einer perkutanen Aufnahme in den Weg. Juliusberg hat die Entwicklung der experimentellen Studien über dieses Problem zusammenfassend kritisch beleuchtet, so daß ich für Einzelheiten auf ihn verweisen darf. Man suchte die Frage zunächst mit dem Mikroskope zu beantworten, indem man nach Einreibungen mit grauer Salbe in exzidierten Hautstückchen nach dem Verbleib der Quecksilberkügelchen fahndete; nach mannigfachen Fehlurteilen wurde schließlich sicher nachgewiesen (besondere Erwähnung verdienen die Untersuchungen von Rindfleisch und Fürbringer), daß das elementare Quecksilber durch die Massage zwar in die Ausführungsgänge der Hautdrüsen und Haarbälge, nicht aber in die Epidermis selbst eingepreßt wird. Wenn überhaupt eine Hautaufnahme des Quecksilbers stattfand, so war also eine Oxydation und Salzbildung an der Hautoberfläche oder in den Drüsen, sei es zu fettsaurem Quecksilber (Mialhe) oder zu Sublimat (Voit), notwendig.

Nur Verbandversuche, bei denen außer der Hautresorption jeder andere Aufnahmeweg von Quecksilber mit peinlichster Sorgfalt ausgeschlossen wurde, vermochten hier die Entscheidung zu fällen.

Aber obwohl bereits Juliusberg acht Autoren anführen konnte (Fleischer, Ferrari und Asmundo, Rémond, Piccardi, Merget, Schuster, Welander, Roth), die sich die Lösung dieser Aufgabe zum Ziel gesetzt hatten, und er selbst noch eine Anzahl wohl überdachter Versuche hinzufügte, ist es noch nicht möglich, sich eine quantitative Vorstellung von der Intensität des Quecksilberdurchtritts durch die Haut zu machen. Entweder war in den Versuchen die Gefahr einer Inhalation nicht genügend ausgeschaltet oder die Versuchsdauer zu kurz, oder aber die chemische Analyse der Ausscheidungen ungenügend und zu wenig genau; an diesem letzten Fehler leiden auch die Versuche von Juliusberg selbst. Bei dieser Sachlage mußte es als ein dankbares Beginnen erscheinen, bei unter strengsten Versuchsbedingungen angestellten Tierversuchen durch eine vollständige Analyse von Kot, Harn — die anderen Ausscheidungen. wie Speichel und Exspirationsluft kommen wegen ihres minimalen oder überhaupt noch problematischen Quecksilbergehaltes nicht in Betracht — und Organen die Permeabilitätsgröße des Quecksilbers zu bestimmen.

Ich hatte zunächst beabsichtigt, meine Quecksilberstudien nicht allein auf die graue Salbe zu beschränken, sondern auch gewerbehygienisch interessierende Quecksilberverbindungen, wie den Zinnober, vor allem auch das Sublimat, in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen. Die jetzigen außergewöhnlichen Zeitumstände mit ihrer Erschwerung und Verlangsamung des experimentellen Arbeitens haben dieses Vorhaben zunächst

vereitelt; doch hoffe ich später in der Lage zu sein, die vorliegenden Grundversuche in der angedeuteten Weise weiter auszubauen und zu ergänzen.

Über das Problem der Hautresorption des Quecksilbers der grauen Salbe habe ich im ganzen 4 Versuche angestellt. Die ersten beiden wurden ausgeführt, als ich die analytische Methodik noch nicht zur gewünschten Vollkommenheit ausgebildet hatte, um einen orientierenden Eindruck zu gewinnen; sie sind also mehr als Vorversuche zu bezeichnen. Deshalb verzichte ich auch auf eine Wiedergabe der Protokolle dieser beiden Versuche und begnüge mich mit ihrer summarischen Schilderung.

Quecksilberversuch I und II.

(November 1919.)

Zwei junge, noch nicht ausgewachsene Kater von etwa 1500 g Gewicht.

Nach der üblichen Verbandgewöhnung und Schur einer 100 qcm großen Rückenfläche wurden die Tiere alle acht Tage am offenen Fenster mit der offiziellen grauen Salbe:

Schweineschmalz	112
Wollfett	15
Olivenöl	3
Hammeltalg	70
Quecksilber	100

je 10 min lang eingerieben; dann erhielten sie einen Verband mit denselben Einzelschichten wie bei den Bleiversuchen (s. Fig. 2), nur daß die Kollodiumfixierung des Billrothbattists unterblieb.

Nach der 3. Einreibung fingen beide Tiere an, abzumagern; das eine ging nach weiteren acht Tagen ziemlich plötzlich zugrunde, das andere verfiel einer sich noch 3 Wochen hinziehenden Kachexie.

Der Sektionsbefund ergab in beiden Fällen außer einer Nierenverfettung höheren Grades, als man sie sonst auch bei normalen Katzen zu sehen gewohnt ist (vgl. die Katzennieren-Studien von K. B. Lehmann und Treutlein), nichts Auffälliges.

Von Kot und Urin wurden nur Stichproben untersucht, und zwar mit Hilfe der bloßen Elektrolyse der Chlorierungsflüssigkeiten. Es konnten stets nur Spuren von Quecksilber nachgewiesen werden; am meisten (0,3 bis 0,6 mg) fand sich noch in den Nieren der Tiere. Ich messe diesen Zahlen keinen großen Wert bei, da die analytische Methodik zu ungenau war (vgl. Abschn. III, S. 201).

Bei der Mikroskopie der mit Äther gereinigten Haut wurden nur in den Mündungen der Haarbälge vereinzelte schwarze Pünktchen wahrgenommen, die als Quecksilberkugeln zu deuten waren; im übrigen fanden sich keine Anzeichen der vorgenommenen Behandlung mehr vor, insbesondere nirgends entzündliche Veränderungen. Auch eine Gelbbraunfärbung der Hornschicht trat nach dem Einlegen der Schnitte in Schwefelammonium nicht auf; dagegen färbte sich dieselbe mit Sudan deutlich rot, ein Anzeichen gleichmäßiger fettiger Durchtränkung.

Es schien aus diesen Versuchen wenigstens soviel hervorzugehen, daß der dauernde Kontakt von grauer Salbe mit einer 1 qdm großen Hautfläche auch bei starker Behinderung (allerdings nicht völligen Ausschluß) der Quecksilbereinatmung genügt, um im Laufe mehrerer Wochen eine Vergiftung von Katzen zu verursachen. Man durfte demnach hoffen, auch bei Versuchen, welche unter Innehaltung der peinlichsten Vorsichtsmaßregeln angestellt waren, ein ähnliches Resultat zu erhalten.

Die Protokolle zweier solcher Versuche, bei denen auf die analytische Methodik durch die Zwischenschaltung der Kupferamalgamation zu befriedigender Genauigkeit ausgebildet war, gebe ich nachstehend wieder.

Quecksilberversuch III.

Versuchstier: Ausgewachsene, gutmütige Katze.
Kontrolltier: Ausgewachsener, gutmütiger Kater.

Versuchstage (18. II. 20)

a) Verlauf.

0 Beide Tiere: Gewöhnungsverband.

9 Die Tiere kommen heute zur Gewöhnung 1 h in den Resorptionskäfig (s. Fig. 4, S. 193); jeden folgenden Tag 1 h länger.

16 Die Tiere verhalten sich im Kasten jetzt vollständig ruhig.

Die Versuchskatze wird an Rücken und Flanken in einer Ausdehnung von 14:14 cm kurzgeschoren; darauf kommen beide Tiere für dauernd in den Resorptionskasten. 10 min langes Einreiben von 10 g grauer Salbe in ganzer Ausdehnung der geschorenen Fläche (ca. 200 qcm). Darüber Verband und Mantel wie in Versuch I und II; die nicht eingeriebene Kontrollkatze erhält den gleichen Verband.

21 Neue Einreibung mit weiteren 5 g grauer Salbe.

27 Neue Einreibung mit weiteren 10 g grauer Salbe.

ff. Allmählich macht sich ein Unterschied im Verhalten der beiden Katzen geltend. Während das Kontrolltier ein leidlich munteres Benehmen bewahrt hat und sein Futter fast immer vollständig verzehrt, macht die Versuchskatze einen müden, schläfrigen Eindruck und frißt schlecht. Vereinzelte dünne Stühle. Auch macht sich eine zunehmende Salivation bemerkbar, der ausfließende zähschleimige Speichel wird indes gewöhnlich wieder aufgeleckt. Auffälliger Haarausfall.

37 Neue Einreibung mit weiteren 5 g grauer Salbe.

ff. Zunehmende Kachexie des Versuchstieres. Die Kontrollkatze ist wohlauf.

43 Die moribunde Versuchskatze, die schon ein paar Tage lang außer Wasser keine Nahrung mehr zu sich genommen hat, wird noch im Apparat (nach Entfernung des Kontrolltieres) mit Chloroform getötet, nach der Herausnahme durch Halsschnitt möglichst entblutet.

Abnahme des Verbandes. Die Haare sind auf etwa ¾ cm nachgewachsen, aber durch die Salbenmasse völlig verklebt, so daß die Salbe den Kontakt mit der Haut noch nicht verloren hat.

Die Kontrollkatze springt, von ihrem Verbande befreit, sogleich munter im Zimmer umher.

b) Gewichte.

Versuchstage	Versuchstier	Kontrolltier
0	2890 g	3010 g
10	2925 g	3030 g
16	2955 g	3050 g
43	2470 g	2770 g
Abnahme um	16,4 %	9,2 %

c) Quecksilberausscheidung.

Versuchstage	Versuchstier Kot g	Hg mg	Urin ccm	Hg mg	Kontrolltier Kot g	Hg mg	Urin ccm	Hg mg
11 bis 16	75	0	610	0	65	0	520	0
17 ,, 21	63	0,7	530	0,2	57	0	565	0
22 ,, 27	31	0,8	560	0,4	45	0	470	0
28 ,, 37	93	1,2	500	0,9	63	0	810	0,05
38 ,, 43	18	0,6	205	0,5	36	0	450	0

d) Sektionsbefund des Versuchstieres.

(Das Kontrolltier wurde nicht getötet.)

43 Aus dem Maule hängt bräunlicher, schleimiger Speichel. Nach dem Abwischen desselben zeigen die Mahlzähne einen schmutzigen, übelriechenden Belag, von einer Stromatitis ist nichts zu bemerken.

Der ganze Hinterleib des Tieres ist stark ödematös. Die hinteren Extremitäten sind dick und schwer, beim Durchschneiden der Schenkelhaut fließt Wasser in reichlicher Menge aus. Die Menge der Ödemflüssigkeit kann gut auf 250 ccm geschätzt werden. (Daraus ergibt sich eine wahre Gewichtsabnahme des Tieres nicht um 16,4, sondern um 24,9%).

Unterhautzellgewebe und Netz nahezu fettfrei. In den Körperhöhlen keine Transsudate. Die Nierenkapsel ist an einigen Stellen angewachsen; auf dem Schnitt quillt die getrübt aussehende Rinde deutlich vor, sie zeigt, schon makroskopisch sichtbar, gelbe Streifen. Der Magendarmkanal ist nahezu leer, Entzündungserscheinungen sind nicht zu bemerken.

Mikroskopisch zeigten die Epithelien der Nierenkanälchen albuminöse Körnung, vakuoläre Degeneration und eine außerordentlich hochgradige Fetteinlagerung; die letztere war besonders in den Tubuli contorti, dann in einzelnen geraden Harnkanälchen (wodurch der Eindruck der erwähnten gelben Streifung entstand), in geringerem Maße auch in den Glomeruli vorhanden. (Herr Geheimrat Dr. M. B. Schmidt hatte die Liebenswürdigkeit, die Präparate zu begutachten.) Herz, Leber und Darm waren mikroskopisch o. B.; die eingeriebene Haut verhielt sich wie in Versuch I und II.

Diagnose: Parenchymatöse Nephritis.

e) Quecksilbergehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Quecksilbergehalt absolut mg	Quecksilbergehalt in 1000 g mg
Zwei Nieren	27	1,2	44,4
Dickdarm mit Inhalt	32	0,4	12,5
Leber mit Gallenblase	90	0,4	4,4
Milz	6	0,025	4,2
Herz	16	0,05	3,6
Gehirn und Rückenmark	35	0,05	1,4
Dünndarm mit Inhalt	78	0,1	1,3
Blut	45	0,05	1,1
Lunge mit Trachea	26	0,025	1,0
Magen mit Speiseröhre	34	0,025	0,7
Muskulatur vom Schenkel	70	0,05	0,7
,, ,, Rücken	37	0,025	0,7
Netz und Pankreas	54	0,025	0,5
Blase	5	0	0
Eingeriebene Haut (25 qcm) (mit Äther gereinigt)	7	1,3	181,5

Quecksilberversuch IV.

Versuchstier: Ausgewachsener, gutmütiger Kater; Kontrolltier von Versuch III.
Kontrolltier: Ausgewachsener, sehr zahmer und gutmütiger Kater.

Versuchstage (10. IV. 20)

a) Verlauf.

0 Beide Tiere: Gewöhnungsverband.

7 Beide Tiere: Gewöhnung an das Verbleiben im Resorptionskäfig durch täglich steigende Aufenthaltsdauer.

12 Die Dressur genügt. Das Versuchstier wird an Rücken und Seiten in einer Ausdehnung von 14:14 cm kurzgeschoren; darauf kommen beide Tiere für dauernd in den Resorptionskasten.

Versuchstier: 10 min langes Einreiben von 15 g grauer Salbe auf der ganzen geschorenen Hautfläche (ca. 200 qcm); darüber Verband und Mantel wie im vorhergehenden Versuch.

Kontrolltier: Um den letzten Einwand zu entkräften, daß auch die Versuchskatze III nur durch eingeatmete Quecksilberdämpfe, die von der eingeriebenen Hautfläche durch den „spanischen Kragen" in den Atmungsraum eindrangen, aber zu der entfernteren Kontrollkatze nicht

Versuchstage

mehr gelangten, vergiftet worden sein könnte, erhält diesmal auch die Kontrollkatze einen Salbenverband, doch liegt die Quecksilberschicht der Haut natürlich nicht an. Einzellagen dieses Verbandes: Watte, Billrothbattist, Gelatinefolie, 8 Lagen Zeitungspapier, mit 25 g Unguentum cinereum auf 200 qcm großer Fläche bestrichene Kompresse, reine Kompresse, Watte, Billrothbattist, Watte, Bindentouren, Mantel.

17 Neue Einreibung mit weiteren 15 g grauer Salbe.

25 Neue Einreibung mit weiteren 7,5 g grauer Salbe.

ff. Deutlicher Unterschied im Befinden der beiden Katzen. Während die Kontrollkatze — von einer Konjunktivitis abgesehen, welche wohl das ununterbrochene Anblasen mit trockener Luft verschuldet hat — keinerlei auffälligen Befund bietet und gut frißt, wird das Versuchstier wieder merkwürdig apathisch. Es leckt sich viel (Salivation?). Sein Fell wird rauh und struppig, die Haare gehen leicht aus. Freßlust gering, Kot ab und zu dünnschleimig.

33 Nach peinlichem Schutz der sonst unbedeckten Teile des Tierkörpers sowie der Unterlage mit Papier und Watte wird die alte Salbe abgekratzt und 10 g frische graue Salbe eingerieben.

ff. Kot des Versuchstieres meist flüssig-schleimig. Appetit hat sehr nachgelassen. Geringer, aber doch merklicher Speichelfluß.

40 Eine geplante Neueinreibung ist wegen des starken Nachwuchses der Haare (über 1 cm) nicht mehr möglich.

ff. Im Befinden der Versuchskatze ist eine leichte Besserung eingetreten. Der Kot ist meist wieder fest, die Nahrungsaufnahme, wenn auch immer noch gering, etwas besser.

45 Da der kränkliche Zustand des Versuchstieres andauert, ohne daß sein baldiger Tod noch zu erwarten ist, erfolgt (nach Entfernung der tadellos munter gebliebenen Kontrollkatze) noch innerhalb des Kastens seine Tötung durch Chloroform.

b) Gewichte.

Versuchstage	Versuchstier	Kontrolltier
0	2900 g	3320 g
7	2990 g	3285 g
12	3060 g	3310 g
45	2145 g	3020 g
Abnahme um	29,9 %	8,8 %

c) Quecksilberausscheidung.

Versuchstage	Versuchstier Kot g	Versuchstier Hg mg	Versuchstier Urin ccm	Versuchstier Hg mg	Kontrolltier Kot g	Kontrolltier Hg mg	Kontrolltier Urin ccm	Kontrolltier Hg mg
7 bis 12	68	0	725	0	51	0	570	0
13 ,, 17	60	0,7	505	0,3	68	0	535	0
18 ,, 25	79	1,1	610	0,6	73	0,05	550	0
26 ,, 33	54	0,7	490	0,6	60	0	920	0,025
34 ,, 40	35	0,6	315	0,5	63	0	615	0
41 ,, 45	26	0,4	280	0,4	46	0	500	0

d) Sektionsbefund des Versuchstieres.

(Das Kontrolltier wurde nicht getötet.)

45 Sehr stark abgemagertes Tier. An der Schleimhaut des Maules keine Entzündungserscheinungen. Die hinteren Extremitäten zeigen ein deutliches, wenn auch viel geringergradiges Ödem wie bei der Quecksilberkatze III (etwa 25 ccm Ödemflüssigkeit im ganzen). In den Körperhöhlen keine Ergüsse. Magendarmkanal nahezu leer, ohne Reizerscheinungen. An den Nieren kein auffälliger pathologischer Befund. Auch alle anderen Organe o. B.

Unmittelbar unter der eingeriebenen Haut befindet sich hinter jedem Schulterblatt je eine erbsengroße merkwürdig grau gesprenkelte Lymphdrüse

Mikroskopisch weisen die Nieren eine Verfettung mäßigen Grades auf, die nicht mit Sicherheit als degenerativer Art zu bezeichnen ist.

Die eine der beiden erwähnten Lymphdrüsen (die andere wurde der chemischen Analyse zugeführt) zeigt im Schnitte (s. Tafel III) eine eigenartige körnige braunschwarze Pigmentierung zahlreicher Retikulumzellen des Randsinus (Herr Geheimrat M. B. Schmidt).

Um die Natur des Pigmentes festzustellen, wurden folgende mikrochemische Reaktionen an ungefärbten Schnitten ausgeführt:

1. verdünnte Salzsäure oder verdünnte Salpetersäure bewirken weder kalt noch warm eine Lösung;

2. verdünnte warme Salzsäure mit Zusatz einiger Körnchen chlorsauren Kalis löst die Granula auf, und zwar bedeutend rascher als das Gewebe selbst;

3. gibt man nach dem Abdunsten der chlorhaltigen Flüssigkeit zu

a) 1 Tropfen Ferrozyankali, so entsteht kein Berliner Blau;

b) 1 Tropfen Ammonsulfid, so entsteht eine diffuse leicht gelbbraune Färbung des ganzen Schnittes.

Es kann sich demnach nicht um Kohle, Schwefeleisen, einen Abkömmling des Blutfarbstoffes oder Formolpigment handeln. Auch Melanin kommt nach Herrn Geheimrat Schmidt nicht in Betracht.

Da die chemische Analyse des zweiten Lymphknotens einen verhältnismäßig hohen Gehalt an Quecksilber aufgedeckt hat, so ist der Verdacht, daß das Pigment mit der Quecksilberresorption im Zusammenhang stünde, gerechtfertigt. Unveränderte Quecksilberkügelchen der grauen Salbe liegen sicherlich nicht vor (s. Tafel III); dagegen hat das Pigment viel Ähnlichkeit mit einem in vitro erzeugten Quecksilbersulfidniederschlag, dessen chemische Eigenschaften das Verhalten des Pigments auch völlig erklären würde.

Die mit Äther gereinigte Haut und die Haarbälge wurden frei von Quecksilber befunden.

e) Quecksilbergehalt des Körpers.

Organ	Gewicht g	Quecksilbergehalt absolut mg	Quecksilbergehalt in 1000 g mg
Rückenlymphknoten	0,15	0,1	666,7
(also zwei solche Knoten		0,2)	
Zwei Nieren	28,5	0,7	24,6
Dickdarm	20,0	0,3	15,0
Mesenteriallymphknoten	5,6	0,025	4,5
Leber	105.1	0,3	2,9
Herz	10,2	0,025	2,4
Rückenmuskulatur	28,3	0,025	0,9
Magen und Speiseröhre	29,2	0,025	0,9
Blut	33,3	0,025	0,8
Dünndarm mit Inhalt	68,7	0,05	0,7
Schenkelmuskulatur	66,8	0,025	0,4
Lunge mit Trachea	22,9	0	0
Pankreas	6,8	0	0
Milz	4,7	0	0
Blase	3,1	0	0
Speicheldrüsen	2,8	0	0

Fassen wir die Analysenbefunde der beiden letzten Versuche kurz zusammen, ähnlich wie wir es beim Blei getan haben, so erhalten wir folgende Zahlen:

	Katze III	Katze IV
Wirkungsfläche	200 qcm	200 qcm
Einwirkungszeit	27 Tage	33 Tage
Quecksilber im Kot	3,3 mg	3,5 mg
„ im Harn	2,0 mg	2,4 mg
„ im Körper	2,4 mg	1,7 mg
zusammen	7,7 mg	7,6 mg
Quecksilberaufnahme im Tagesdurchschnitt	0,286 mg[1])	0,230 mg
Mittlere Permeabilitätsgröße . .	0,143 mg	0,115 mg

Im Mittel der beiden Versuche finden wir eine mittlere Permeabilitätsgröße von 0,128 mg Hg.

Es ist somit nicht mehr daran zu zweifeln, daß das Quecksilber der grauen Salbe in einem gewissen Umfange durch die Haut der Wärmblüter in den Körper einzutreten vermag.

Über die Art und Weise des Eindringens sagen die Versuche nichts Sicheres aus. Die Hornschicht war, wie die Versuche mit Schwefelammonium zeigten, mit gelöstem Quecksilbersalz nicht merklich imbibiert; vielleicht besteht die Fürbringersche Ansicht zu Recht, daß für diese Applikationsweise des Quecksilbers die Haarbälge und Talgdrüsen die vorzüglichsten Resorptionsstätten sind. Es würde hierzu auch der Befund von Quecksilbersulfid in den regionären Lymphdrüsen sprechen, dessen Zustandekommen man sich so vorstellen kann, daß das in den Haarbälgen durch Keratinzerfall (wobei Schwefelwasserstoff abgespalten wird) gebildete Sulfid auf irgendwelche Weise — vielleicht durch Wanderzellen — in den Lymphstrom gelangt und dann abgefangen wird. Das Fehlen von Quecksilberkugeln in den Haarbälgen bildet bei dem langen zeitlichen Abstand zwischen der letzten Einreibung und dem Tode des Tieres (12 Tage) keinen Gegenbeweis gegen eine solche Vermutung.

Um so eindeutiger sind die Ergebnisse in quantitativer Beziehung. Während die Kontrolltiere unter dauerndem Wohlbefinden kein Quecksilber oder doch nur ab und zu ganz minimale Spuren ausschieden (ob dieselben auf Hg-Ausatmung des Versuchstieres oder auf ein spurweises Eintreten von Hg-Dämpfen in den Atmungsraum zurückzuführen sind, sei dahingestellt), war der Quecksilbergehalt der Exkretionen und Organe der Versuchstiere gar nicht unerheblich, jedenfalls genügend, um die schweren Vergiftungen zu erklären. Daß die Katze IV ihr Leben kümmerlich fortfristen konnte, während die Vergiftung bei Katze III zum Tode führte, mag seinen Grund teils in der bei Katze IV etwas geringeren Resorption, teils in einer verschiedenen individuellen Giftresistenz haben.

Die mittleren Permeabilitätsgrößen waren nicht größer, durchschnittlich sogar ein wenig kleiner als in den Bleiversuchen; die reichlichere absolute Metallaufnahme ist durch die größere Ausdehnung der eingeriebenen Hautflächen bedingt.

An der Hand der hier gewonnenen Resultate ist zum ersten Male die Möglichkeit gegeben, über das Verhältnis der Quecksilberinha-

1) Auch hier wurde auf ein Inrechnungsetzen des Quecksilbergehaltes des Gesamtkörpers (nach Ullmann) aus den S. 219 angeführten Gründen verzichtet.

lation zur Hautresorption bei der Schmierkur bestimmtere Angaben zu machen.

Bei der Besprechung der Bleiversuche konnte festgestellt werden, daß auf Grund des gleichartigen resorptiven Verhaltens die Berechtigung gegeben ist, die an der Katzenhaut gewonnenen Resultate — also wohl auch in bezug auf die Quecksilberresorption — auf den Menschen zu übertragen. Nun werden bei der Schmierkur im allgemeinen 5 bis 10 qdm Hautfläche von der grauen Salbe bedeckt sein; diese würden — eine mittlere Permeabilitätsgröße von rd. 0,15 angenommen — einer täglichen Quecksilberaufnahme von 0,75 bis 1,5 mg durch die Haut entsprechen. Da aber auf der Höhe der Schmierkur, d. h. dann, wenn die Quecksilberdepots des Körpers gefüllt sind, die Ausscheidung also konstant bleibt und der Resorption gleichgesetzt werden kann, ungefähr 3 mg Quecksilber täglich in Harn und Kot exzerniert werden (Bürgi, Lomholt), so dürfen wir schließen, daß etwa ¼ bis ½, im Durchschnitt also etwa ⅓ der Gesamtquecksilberresorption bei der Schmierkur durch die Haut erfolgt.

Überblick.

Die Frage nach der Hautdurchgängigkeit von Stoffen ist in erster Linie ein Problem der Methodik. Die Schwierigkeiten und Unsicherheiten der Versuchsanordnung werden besonders zahlreich, wenn es gilt, an Tieren wochenlang ununterbrochene Hautresorptionsversuche anzustellen; solche „Verbandversuche“ sind aber gerade zur Entscheidung der Frage nach der Hautpermeabilität für Schwermetalle nicht zu entbehren.

Es mußte deshalb zunächst die Versuchsanordnung eine eingehende, theoretisch gestützte Betrachtung erfahren. Diese führte zu folgenden Schlüssen:

1. Die Applikation in fettigem Medium ist der wässerigen Applikation physiologisch insofern gleichwertig, als auch bei ihr das Eindringen der gelösten Stoffe in osmotischen Vorgängen beruht;

2. die Einmassierung fettig gelöster Substanzen führt nur eine anfängliche Beschleunigung der Resorption herbei, nicht aber eine Durchschnittserhöhung des Resorptionseffektes bei langdauerndem Kontakt der Salbenmasse mit der Haut;

3. wasserdichte Verbände, an nicht transpirierenden Hautflächen angelegt, führen nicht zu einer Änderung der resorptiven Funktion der Haut.

Der Technik der Bandagierung wurde für das Gelingen der Versuche großer Wert beigemessen, ebenso einer dem eigentlichen Versuch vorausgehenden Dressur der Tiere an ihre im Experiment einzunehmende Zwangslage. Für die Ausführung von Resorptionsversuchen mit flüchtigen Substanzen (Quecksilber) wurde ein besonderer Apparat konstruiert.

Der Nachweis der die Haut passierenden Schwermetalle in den Ausscheidungen und Organen des Körpers hat bei der Geringfügigkeit der in Betracht kommenden Mengen eine besonders subtile Ausbildung der chemisch-analytischen Methodik zur Voraussetzung. Sowohl für den quan-

titativen Nachweis des Bleis als auch für den des Quecksilbers wurden von mir eine Reihe von Modifikationen angegeben.

Die nach solchen Grundsätzen mit Bleisalben angestellten Einreibungsversuche an Katzen und am Menschen haben ergeben, daß bei beiden die während der Versuchszeit im Tagesdurchschnitt durch 1 qdm Haut eintretende Bleimenge — oder die „mittlere Permeabilitätsgröße" für Blei — 0,1 bis 0,2 mg beträgt. Mag diese Menge vielleicht zu einer chronischen Vergiftung von Katzen noch genügen: im menschlichen Leben, auch in Gewerbebetrieben, wird es keine Verhältnisse geben, welche so zu einer bedenklichen Bleiresorption durch die Haut führen könnten. Die praktische Möglichkeit einer Bleivergiftung des Menschen durch die Haut ist abzulehnen.

Die mittlere Permeabilitätsgröße für Quecksilber, welches Katzen in Form der grauen Salbe eingerieben wurde, wurde gleichhoch gefunden. Durch Vergrößerung der behandelten Hautfläche gelang es, den Tieren auf dem Hautwege solche Quecksilbermengen einzuverleiben, daß sie schwer oder sogar tödlich erkrankten. Durch Übertragung der an den Katzen gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen — wozu der Nachweis des gleichen resorptiven Verhaltens von Katzen- und Menschenhaut gegenüber dem Blei die Berechtigung verleiht — läßt sich berechnen, daß bei der Schmierkur täglich etwa 1 mg Quecksilber durch die Haut aufgenommen werden, was ungefähr einem Drittel der Gesamtquecksilberresorption gleichkommt. — Hautresorptionsversuche mit Quecksilbersalzen, vor allem mit Sublimat, sollen später noch ausgeführt werden.

Sehr auffällig ist die Tatsache, daß die Metallaufnahme aus 50proz. Bleioleatsalbe, aus 33proz. Bleiglätte-Katzenfettmischung und aus der grauen Quecksilbersalbe fast gleiche Werte erreicht, obgleich doch in dem Gehalt dieser Salben an fettlöslichen, resorbierbaren Salzen auch nach der Umsetzung mit dem Salbenfett und dem Schweiß und Talg der Haut noch sehr große Verschiedenheiten vorhanden sein müssen. Ohne daß bei der geringen Anzahl der Versuche sichere Schlußfolgerungen daran geknüpft werden kösnen, drängt sich doch die Vorstellung auf, daß, wenn einmal eine bestimmte Konzentration der fettigen Grundlage an gelöster Substanz erreicht ist, eine weitere Erhöhung dieses Gehaltes keine entsprechende Zunahme des Resorptionseffektes mehr bewirke — oder mit anderen Worten: die Linie, welche die Abhängigkeit der Permeabilitätsgröße von der Salbenkonzentration verkörpert, könnte recht wohl keine Gerade, sondern eine asymptotische Kurve sein.

Unter diesem Gesichtswinkel betrachtet, bedeutet die vorliegende Arbeit also keineswegs einen Abschluß, sondern eine Anregung zu weiteren Versuchen unter variierten Bedingungen, deren Ergebnis schließlich nicht nur theoretischen, sondern auch praktisch-therapeutischen Wert gewinnen könnte.

Literaturverzeichnis.

(In den mit * versehenen Arbeiten finden sich weitere Literaturangaben.)

Zur Einleitung:

Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.
Cohnheim, Die Resorption der Nahrungsstoffe. In Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen, II, S. 607ff.
*Höber, Die physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911.
Bang, Chemie und Biochemie der Lipoide. Wiesbaden 1911.
*Bechhold, Die Kolloide in Biologie und Medizin. Dresden und Leipzig 1919.
Spiro, Resorption und Assimilation. In Zuntz-Loewys Lehrbuch der Physiologie, 1920, S. 565ff.

Zu I:

Schneider, Lehrbuch der vergleichenden Histologie. Jena 1902.
Wiedersheim, Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere. Jena 1906.
Stöhr-Schultze, Lehrbuch der Histologie. Jena 1915.
Bettmann, Einführung in die Dermatologie. Wiesbaden 1914.
Schmiedeberg-Faust, Grundriß der Pharmakologie. Leipzig 1913.
Spiro, Hautresorption. In Zuntz-Loewys Lehrbuch der Physiologie, 1920, S. 579.
Metzner, Die Absonderung des Hauttalgs und des Schweißes. In Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen, II, S. 385ff.
*Fleischer, Untersuchungen über das Resorptionsvermögen der menschlichen Haut. Hab.-Schrift, Erlangen 1877.
Traube-Mengarini, Über die Permeabilität der Haut. Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiol. Abt. 1892, Erg.-Bd., S. 1.
Filehne, Über die Durchgängigkeit der menschlichen Epidermis für feste und flüssige Stoffe. Berliner klinische Wochenschrift, 1898, Nr. 3, S. 45.
*Schwenkenbecher, Das Absorptionsvermögen der Haut. Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiol. Abt., 1904, S. 121.
Oesterlen, Übergang des regulinischen Quecksilbers in die Blutmasse und in die Organe. Archiv für physiologische Heilkunde, 1843.
Rindfleisch, Zur Frage von der Resorption des regulinischen Quecksilbers. Archiv für Dermatologie und Syphilis, Jahrg. II, S. 309.

Zu II.

*Fleischer, l. c. (I).
*Juliusberg, Experimentelle Untersuchungen über die Quecksilberresorption bei der Schmierkur. Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 56, S. 65.
*Schwenkenbecher, l. c. (I)
Vogt und Burckhardt, Über die Aufnahme von Metallen, speziell Blei, Zink und Kupfer, durch die Haut. Archiv für Hygiene, Bd. 85, S. 323.
Süßmann, Beitrag zur Frage der Permeabilität der intakten Haut für Bleiverbindungen. (Vorl. Mitt.) Münchener medizinische Wochenschrift, 1918, S. 1407.
K. B. Lehmann, Kurzes Lehrbuch der Arbeits- und Gewerbehygiene. Leipzig 1919.

Zu III.

H. Meyer, Analyse und Konstitutionsermittelung organischer Verbindungen. Berlin 1916.
*Neuberg, Der Harn. Berlin 1911. I, S. 181.
Meillère, Anwendung der Reaktionen des Mitreißens zur Charakterisierung und Bestimmung der in einem Komplex in Form von Spuren enthaltenen Körper. Toxikologischer Nachweis des Bleis. Annal. de Chimie anal. appl. Bd. 20, S. 73. Ref. in Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 57, S. 63.
Vogt und Burckhardt, l. c. (II).

Beck, Löwe und Stegmüller, Zur Kenntnis der bleihaltigen Glasuren und deren Bleiabgabe an saure Flüssigkeiten. Arbeit aus dem K. Gesundheits-Amt, Bd. 33, S. 239.

Meyer, Aug., Versuche über den Nachweis des Quecksilbers im Harn. Wiener medizinisches Jahrbuch, 1877, S. 1.

Raaschou, Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. 40, S. 172.

Schuhmacher und Jung, Über eine einfache und zuverlässige Methode, quantitativ im Harn das Quecksilber nachzuweisen. Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 42, S. 138.

Ludwig und Zillner, Über eine Methode der quantitativen Bestimmung des Quecksilbers in tierischen Geweben. Wiener klinische Wochenschrift, 1889, Nr. 45, und 1890, Nr. 28 bis 32.

Winternitz, Quantitative Versuche zur Lehre über die Aufnahme und Ausscheidung des Quecksilbers. Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. 25, S. 225.

Schneider, Über das chemische und elektrolytische Verhalten des Quecksilbers bezüglich dessen Nachweisbarkeit im allgemeinen und in tierischen Geweben im besonderen. Sitzungsbericht der Wiener K. Akademie der Wissenschaften, math.-natw. Kl., Bd. 40, S. 239.

*V. Lehmann, Experimentelle Untersuchungen über die besten Methoden, Blei, Silber und Quecksilber bei Vergiftungen im tierischen Organismus nachzuweisen. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 6, S. 1.

*Buchtala, Über das Verhalten des Quecksilbers gegenüber dem menschlichen und auch tierischen Organismus bei den üblichen therapeutischen Applikationsarten. Neue Methode für den quantitativen Nachweis des Quecksilbers im Harn und in organischen Geweben. Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 83, S. 249.

*Schulte, Über die Gefahr einer Quecksilbervergiftung bei Zahnärzten. Archiv für Hygiene, Bd. 83, S. 43.

Koelsch, Ilzhöfer und Keinath, Untersuchungen über die gewerbliche Quecksilbervergiftung. Methodik: Zentralblatt für Gewerbehygiene, Jahrg. 7, S. 26.

Lomholt, Mikro-Quecksilberbestimmung. Biochemische Zeitschrift, Bd. 81, S. 356.

Rupp, Berliner Berichte, Bd. 35, S. 2015.

Zu IV.

Canuet, Essai sur le plomb considéré dans ses effets sur l'économie animale, et en particulier sur la colique de plomb ou saturnine. Thèse de Paris, 1825, Nr. 202.

Tanquerel des Planches, Traité des maladies de plomb, ou saturnines. Paris 1839.

Drouet, Recherches expérimentales sur le rôle de l'absorption cutanée dans la paralysie saturnine. Thèse de Paris, 1875, Nr. 332.

Monnereau, Recherches expérimentales sur le rôle de l'absorption cutanée dans l'intoxication et la paralysie saturnines. Thèse de Paris, 1883, Nr. 370.

Brezina und Eugling, Untersuchungen über experimentelle Bleivergiftung. Wiener Arbeiten auf dem Gebiete der soz. Medizin, II, S. 29; Beiheft zum „Österreichischen Sanitätswesen", 1912, S. 59. Autoreferat in „Hygienische Rundschau", Bd. 23, S. 491.

Vogt und Burckhardt, l. c. (II).

Süßmann, l. c. (II).

Ullmann, s. V.

Schwenkenbecher, l. c. (I).

Gärtner, Vierteljahrsschrift f. ger. Med., 1910, S. 104.

Zu V.

Kirchgässer, Über die Wirkung der Quecksilberdämpfe, welche sich bei Inunktionen mit grauer Salbe entwickeln. Virchows Archiv, Bd. 32, S. 145.

Fr. Müller, Über die Aufnahme von Quecksilber durch Einatmung. Mitt. aus d. Med. Klinik von Würzburg, Bd. 2, 1886, S. 335.

Kißkalt, Über das Gießfieber und verwandte gewerbliche Metalldampfinhalationskrankheiten. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankh., Bd. 71, S. 472.

*Juliusberg, l. c. (II).

Rindfleisch, l. c. (I).

*Fürbringer, Experimentelle Untersuchungen über Resorption und Wirkung des regulinischen Quecksilbers der grauen Salbe. Virchows Archiv, Bd. 82, S. 491.

Mialhe, Mémoires de l'Acad. de Médecine, 1843.

Voit, Physiologisch-chemische Untersuchungen. 1. Heft. Augsburg 1857. Ref. in „Zeitschr. f. rat. Med.", 1858, 3. Reihe, 3. Bd., S. 215.

*Fleischer, l. c. (I).

Ferrari ed Asmundo, Sull'assorbimento del mercurio metallico per la pelle. Gaz. degli ospedalì e delle cliniche, 1886, p. 81.

Rémond, Notes pour servir a l'étude de l'action du mercure sur l'organisme. Ann. de derm. et de syph., 1888, Bd. 9, S. 158.

Piccardi, Sull'assorbimento del mercurio attraverso la pelle. Gion. ital. d. malattie veneree e della pelle, 1898, S. 684.

Merget, Mercure. Action physiologique, toxique et thérapeutique. Bordeaux et Paris 1894.

Schuster, Mercur-Einreibungen und Mercur-Einatmungen. 71. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu München. Ref. in Dermatol. Zeitschrift, 1899, S. 646.

Welander, Untersuchungen über die Resorption und Elimination des Quecksilbers bei der unter verschiedenen Verhältnissen ausgeführten Einreibungskur. Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 25, S. 39.

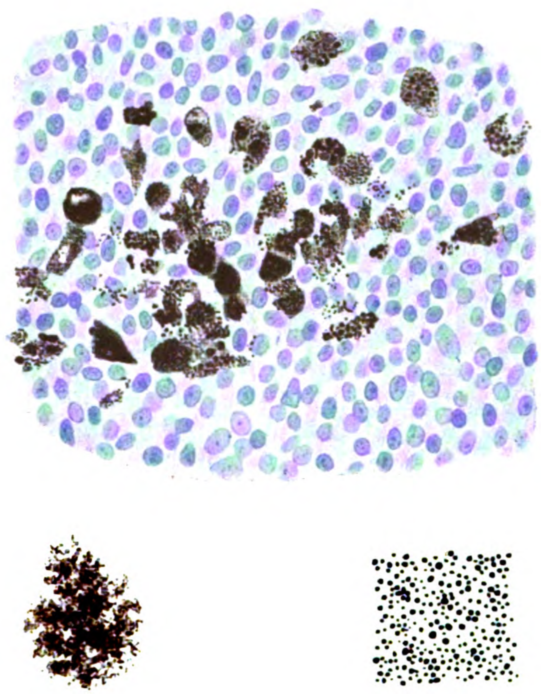
Roth, Die Behandlung der Syphilis mit Quecksilbersäckchen und die Aufnahme des Quecksilbers bei dieser Behandlung. Pester med.-chir. Presse, Jahrg. 36, Nr. 1/2.

K. B. Lehmann und Treutlein, Untersuchungen über den histologischen Bau und den Fettgehalt der Niere der Katze. Frankfurter Zeitschrift für Pathologie, Bd. 15, S. 163.

Ullmann, Über die Lokalisation des Quecksilbermetalls im tierischen Organismus nach verschiedenartiger Applikation von Quecksilberpräparaten. Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 25, 1893, Erg.-Bd., S. 221.

Bürgi, Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 74, 1906, S. 134.

*Lomholt, Die Zirkulation des Quecksilbers im Organismus. Archiv für Dermatologie und Syphilis, Bd. 126, Heft 1.



Schnitt durch eine subkutane Lymphdrüse des Rückens.
(Hämatoxylin-Eosinfärbung.)

Links unten: **Quecksilbersulfid.**

Rechts unten: **Graue Salbe.**

(Vergrößerung stets 500 fach.)

Studien über die Desinfektionswirkung wässeriger Formaldehydlösungen.

Von

Oberbezirksarzt Dr. **Viktor Gegenbauer.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Wien.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 25. Mai 1921.)

I. Einleitung.

Das Ergebnis der bisherigen Untersuchungen über die Desinfektionswirkung des Formaldehyds in wässerigen Lösungen läßt sich dahin zusammenfassen, daß dieser Körper im Vergleich zu den anderen gebräuchlichen Desinfektionsmitteln Milzbrandsporen in verhältnismäßig kurzer Zeit abtötet und daß eine Erhöhung seiner Konzentration in den wäßrigen Lösungen nur eine geringe Abnahme der Abtötungszeit sowohl gegenüber vegetativen Formen als auch gegenüber Sporen bewirkt. So werden nach Xylander[1]) Milzbrandsporen von 0,5-proz. Formaldehydlösungen in 21 Stunden, von 6-proz. Lösungen in 13½ Stunden, Staphylokokken durch dieselben Konzentrationen in 80 bzw. 35 Minuten getötet; Croner[2]) fand die Abtötungszeit gegenüber Staphylokokken bei 2-proz. Lösungen in 45 Minuten bei 4-proz. Lösungen in 25 Minuten.

Die starke Wirkung wässeriger Formaldehydlösungen gegenüber Milzbrandsporen wurde zuerst 1894 von Pottevin[3]) festgestellt, der fand, daß 15-proz. Formalinlösungen (ca. 6% HCOH) Milzbrandsporen in 1½ Stunden, 42-proz. (ca. 17% HCOH) in 1 Stunde abtöten. Ascoli[4]) fand diese Sporen 1895 durch 10-proz. Formalinlösungen (ca. 4% HCOH) in weniger als 5 Stunden vernichtet, nach 26-stündiger Einwirkung einer 1-proz. Formalinlösung (ca. 0,4% HCOH) noch wachstumsfähig. In demselben Jahre fand Oehmichen[5]), daß 1-proz. Formaldehydlösungen Milzbrandsporen in 24 Stunden, 2-proz. Formaldehydlösungen in einer Stunde vernichten, während 12-stündiges bzw. ½-stündiges Verweilen in den betreffenden Formaldehydlösungen diese Sporen nicht abtötet. Die im Jahre 1896 veröffentlichten Versuche Walters[6]) lassen die Desinfektionskraft des Formaldehydes weit günstiger erscheinen, was wohl offenbar auf der Verwendung von Gelatine zur Nachkultur und auf der Mitübertragung von Formaldehyd in den Nährboden beruht. Während nämlich Pottevin die Keime vor dem Übertragen in das Nährmedium mit verdünnter Ammoniaklösung,

Ascoli und Oehmichen mit Wasser wuschen, impfte Walter die Mischung Suspension-Desinfektionsmittel direkt in verflüssigte Gelatine. Walter erhielt Abtötung bei 30-minutiger Einwirkung einer 1-proz. bzw. 15-minutiger einer 3-proz. Formalinlösung (ca. 0,4% bzw. 1,2% HCOH). Krönig und Paul[7]) verwendeten 1897 zur Zerstörung des überschüssigen Formaldehydes verdünnte mit Schwefelsäure angesäuerte Kaliumpermanganatlösung und erhielten bei Anwendung ihrer Granatenmethode bei 60-minutiger Einwirkung einer 5-proz. Formaldehydlösung bzw. 10-minutiger einer 35-proz. Formaldehydlösung Wachstum, nach 2-stündiger bzw. 1-stündiger Einwirkung derselben Konzentration Abtötung der Milzbrandsporen. Bei den Versuchen von Hammer und Feitler[8]) zeigten sich 1898 Milzbrandsporen durch 1-proz. Formalinlösung (ca. 0,4% HCOH) nach 2 Stunden, durch 2- bis 5-proz. Lösungen (ca. 0,8 bis 2% HCOH) nach 1 Stunde, durch 10- bis 20-proz. Lösungen (ca. 4 bis 8% HCOH) schon nach zehn Minuten abgetötet. Die beiden Autoren verwendeten an Seidenfäden angetrocknete Keime; die Fäden wurden nach der Einwirkung des Desinfektionsmittels in Ammoniaklösung ausgewaschen, die Nachkultur erfolgte auf Agar. Paul und Prall[9]) erhielten 1907 noch bei 4-stündiger Einwirkung 3-proz. Formaldehydlösungen auf an Granaten angetrockneten Milzbrandsporen Wachstum und übertrafen somit bezüglich der festgestellten oberen Wachstumsgrenze die Angaben der früheren Autoren. Xylander[1]) ermittelt dann in demselben Jahre für 2 (A) und 4½ (B) Minuten dampfresistente Milzbrandsporen folgende Abtötungszeiten:

Formaldehydkonzentration	Abtötungszeiten A	B
0,5	14 Stunden	21 Stunden
1,0	12 ,,	19½ ,,
2,0	10½ ,,	17½ ,,
3,0	8¼ ,,	15½ ,,
6,0	6 ,,	13½ ,,

Seligmanns[10]) im Jahre 1908 veröffentlichten Versuchsergebnisse stimmen mit den Angaben der früheren Autoren überein. (0,6- und 0,96-proz. Formaldehydlösungen töten Milzbrandsporen in 3½ Stunden nicht ab.) Die Nachbehandlung bestand bei den letzten vier Untersuchern in Waschen der desinfizierten Keime mit verdünnter Ammoniaklösung. Die Kultur erfolgte auf Agar oder Bouillon.

Die Desinfektionswirkung von Formaldehyd gegenüber Staphylokokken wurde zuerst von Slater und Rideal[11]) untersucht, die fanden, daß 2,5-proz. Formalinlösung (ca. 1% HCOH) diese vegetativen Formen nach 50-minutiger Einwirkung nicht, wohl aber nach 60-minutiger Einwirkung abtöte. Blum[12]) erhielt 1893 durch 5-proz. Formalinlösung (zirka 2% HCOH) nach 30-minutiger, Gegner[13]) in demselben Jahre schon nach einminutiger Einwirkung Tod der Keime, Ascoli[4]) 1895 durch 1-proz. Formalinlösung (ca. 0,4% HCOH) in 5 Stunden und durch 5-proz. Formalinlösung (ca. 2% HCOH) in 30 Minuten Abtötung. Walter[6]) konnte 1896 nach 30-minutiger Einwirkung einer 1-proz. bzw. 1minutiger einer 3-proz. Formalinlösung (ca. 0,4 bis 1,2% HCOH) noch Wachstum feststellen, Abtötung erzielte er durch 45-minutige Einwirkung dieser Konzentrationen. Hammer und Feitler[8]) fanden 1898 Abtötung durch 1-proz. Formalinlösung nach 2 Stunden, durch 5-proz. Formalinlösung nach 1 Stunde bzw. 10-proz. Formalinlösung nach 10 Minuten (ca. 0,4%, 2,0%, 4,0% HCOH). Reischauer[14]) konnte 1901 nach 55-minutiger Einwirkung einer 1-proz. Formalinlösung (ca. 0,4% HCOH) Abtötung feststellen. Paul und Prall[9]) erhielten 1907 nach 40-minutiger Einwirkung einer 3-proz. Formaldehydlösung Wachstum, nach 60-minutiger Abtötung. Xylander[1]) fand 1907 folgende Abtötungszeiten für Staphylokokken:

Formaldehydkonzentration	Abtötungszeit
0,5	80 Minuten
1,0	70 ,,
2,0	60 ,,
3,0	46 ,,
6,0	35 ,,

Seligmann[10]) erzielte bei einer Versuchstemperatur von 40° C bei 30-minutiger Einwirkung einer 0,36-proz. Formaldehydlösung Wachstum, bei 60-minutiger Abtötung. Croner[2]) hat dann 1914 als erster mit methylalkoholfreiem Formaldehyd Desinfektionsversuche angestellt. Es erhielt die wäßrige methylalkoholfreie Formaldehydlösung durch Auflösen von Paraform in wenig verdünnter Natronlauge und Neutralisieren der überschüssigen Lauge mit Salzsäure. Als Testmaterial dienten an Seidenfäden angetrocknete Bakterien. Die überschüssige Menge des Desinfiziens wurde mit Wasser abgespült, die Nachkultur erfolgte in Bouillon. Staphylokokken wurden durch eine 2-proz. Formaldehydlösung in 45 Minuten, durch eine 3-proz. in 35 Minuten, durch eine 4-proz. in 25 Minuten abgetötet. Die höchsten Anwachsungszeiten waren in derselben Reihenfolge 35 Minuten, 25 Minuten, 16 Minuten. Zusatz von Methylalkohol zu den Formaldehydlösungen bedingte eine Verschlechterung der Desinfektionswirkung des Formaldehydes.

Aus diesen Desinfektionsversuchen mit Formaldehyd ergibt sich, daß die Art der Nachbehandlung der Keime vor der Übertragung in das Nährmedium — Waschen mit bloßem Wasser oder Waschen mit verdünnter Ammoniaklösung — keinen nennenswerten Einfluß auf das Ergebnis der Versuche hatte.

Einen derartigen Einfluß hätte man sich immerhin vorstellen können, da es ja nach unseren heutigen Vorstellungen über die Beziehungen von Formaldehyd zu Eiweißkörpern sehr wahrscheinlich ist, daß diese beiden Körper eine chemische Bindung eingehen und es denkbar wäre, daß durch Ammoniak die Formaldehydeiweißverbindungen gesprengt werden, wodurch Stoffe der Keime, die an das Formaldehyd gebunden waren, wieder funktionsfähig werden können, wie dies bezüglich des Sublimates und Schwefelwasserstoffes von Gegenbauer[15]) festgestellt wurde. Das Ammoniak führt aber offenbar nur jenes Formaldehyd, das in der Desinfektionsflüssigkeit zugegen ist, in das nach den Untersuchungen von Ohira[16]) relativ wenig entwicklungshemmende Hexamethylentetramin über und besitzt nicht die Fähigkeit die Formaldehydeiweißverbindung zu sprengen.

Diese Feststellung ist insoferne von praktischer Bedeutung, als man bei einem Teil der hygienischen Desinfektion mit der Anwesenheit von Ammoniak rechnen muß, wie beispielsweise bei der Desinfektion von Objekten, die hinterher in ein Medium gelangen, in dem sich diese Base bildet, oder bei der Desinfektion von solchen Objekten, in denen es zur Bildung von Ammoniak kommen kann (Abwässer, Stuhl, Harn, Sputum usw.).

Wenn sich auch aus den bisherigen Versuchen — ausgenommen jenen von Öhmichen — gezeigt hatte, daß mit der Erhöhung der Konzentration der Formaldehydlösung sowohl bei Milzbrandsporen wie bei Staphylokokken nur eine geringe Verkürzung der Abtötungszeit verbunden war, so war doch immerhin eine Abhängigkeit der Desinfektionszeit vom Formaldehydgehalt der Desinfektionslösung festzustellen. Solche Abhängigkeiten müssen einerseits zustande kommen, wenn sich das Desinfiziens zwischen Keim und Desinfektionsflüssigkeit nach konstantem Faktor verteilt, so daß bei höheren Konzentrationen auch mehr Desinfiziens in das Protoplasma der Keime übergeht. Anderseits sind sie aber auch bei chemischen Bindungen als Ursache der Desinfektionswirkung dann denkbar, wenn die Diffusionszeit für den Desinfektionseffekt relativ stark an Bedeutung hervortritt. Dies ist der Fall, wenn schon sehr kurze Zeiten der vollständigen

Bindung genügen, um die Keime abzutöten oder wenn auch bei nicht sehr kurzfristiger Desinfektionszeit besonders Diffusionsschwierigkeiten vorliegen, so daß das schnellere Eintreten des Gleichgewichtszustandes und damit der vollen Bindungsgröße bei höherer Außenkonzentration einen merkbaren Einfluß auf die Desinfektionszeit ausübt. Es hat daher die Erörterung der Ursachen der desinfizierten Wirkung des Formaldehydes zur Voraussetzung, daß die chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Formaldehyd und Mikroorganismen klargestellt sind.

Die Versuchsergebnisse von Herzog und Betzel[17]) weisen auf das Entstehen von Bindungen zwischen Formaldehyd und den Leibessubstanzen der Mikroorganismen hin. Sie fanden, daß beim Zusammenbringen von Formaldehydlösungen und gleichen Hefemengen immer eine annähernd gleich große Formaldehydmenge aus der Flotte verschwindet. Die Bestimmung des Formaldehydgehaltes in der Flotte nahmen Herzog und Betzel nur nach einer Berührungszeit (6 Stunden) vor, so daß uns diese Versuche über die für den vorliegenden Fall wichtige Frage, ob bei kurzer Berührungszeit die Bindungsgröße infolge Nichterreichens des Gleichgewichtszustandes eine Abhängigkeit von der Konzentration zeigt und ob bei längerer Berührungszeit eventuell noch neben Bindungen Lösungsbeziehungen auftreten, keinen Aufschluß gaben.

Die vorliegenden Untersuchungen verfolgten nun den Zweck, die bisherigen Desinfektionsversuche, namentlich bezüglich der Frage der Abhängigkeit der Desinfektionsdauer von der Konzentration der Desinfektionslösung zu ergänzen und die chemischen und physikalischen Beziehungen zwischen Formaldehyd und den Mikroorganismen, als deren Vertreter Hefezellen genommen wurden, eingehender zu studieren, um dann schließlich die Theorie der desinfizierenden Formaldehydwirkung erörtern zu können.

II. Desinfektionsversuche mit wässerigen Formaldehydlösungen.

Die ersten Desinfektionsversuche wurden nach zwei verschiedenen Methoden der Nachbehandlung der desinfizierten Keime — Waschen mit verdünnter Ammoniaklösung bzw. Waschen durch Zentrifugieren und Dekantieren — ausgeführt. Diese Versuche bestätigten hinsichtlich des Einflusses der Nachbehandlung auf das Resultat vollständig die Angaben der Literatur. Es war kein Unterschied in dem Ergebnis zwischen den nach den beiden Methoden angestellten Desinfektionsversuchen festzustellen; weshalb die weiteren Versuche nur mehr nach einer Methode — Waschen mit verdünnter Ammoniaklösung — ausgeführt wurden.

Die Bereitung der Suspension der Testkeime, die Bestimmung der Dampfresistenz der Milzbrandsporen und der Phenolresistenz der Staphylokokken, die Bestimmung der Keimzahl der Suspension und die Versuchstechnik der Versuche mit Waschen der Keime durch Zentrifugieren und Dekantieren der Keime wurde a. a. O.[15]) beschrieben, weshalb an dieser Stelle nur auf die dortigen Ausführungen verwiesen sei. Zu den Versuchen mit Waschen der Keime durch verdünnte Ammoniaklösung wurden an Seidenfäden angetrocknete Keime genommen. Das Waschen erfolgte hier durch ½-minutiges Schwenken der Fäden in 0,5-proz. steriler Ammoniaklösung und nachherigem ebensolangem Schwenken in sterilem Wasser. Die Menge der mit einem Faden in das Nährmedium übertragenen

Keime wurde aus der Keimzahl der Suspension und aus dem festgestellten Gewichte der durch den Faden übertragenen Menge Suspension berechnet. Die Bestimmung dieses Gewichtes erfolgte in der Weise, daß das Gewicht des Gefäßes, in dem sich die Suspension befand, vor und nach der Herausnahme von 10 Fäden bestimmt wurde. Die Nachkultur erfolgte bei den Staphylokokken in 3-proz. Traubenzuckerbouillon. Bei einem Tastversuch mit Zusatz von Serum zum Nährboden wurden keine höheren Anwachsungszeiten erzielt. Die Nachkultur der Milzbrandsporen wurde in Albuminbouillon (0,1 g Albumin auf 10 ccm Bouillon) mit Zusatz von 3% Traubenzucker vorgenommen. Die verwendete Bouillon war nach dem gegenwärtig im hygienischen Institute üblichen Bereitungsverfahren — Ersatz des Fleisches durch Planzenta — hergestellt worden. Die Nachkultur wurde 14 Tage beobachtet.

Die Einwände, welche gegen die Anwendung von Seidenfäden als Trägermittel der Keime erhoben wurden — Absorption des Desinfektionsmittels an der Seide, wodurch die Flüssigkeit, die die Keime unmittelbar umgibt, eine höhere Konzentration des Desinfektionsmittels aufweist als die übrige Flotte, schwieriges Eindringen des Desinfektionsmittels — sind hier ohne ausschlaggebende Bedeutung, wie aus dem guten Übereinstimmen der Resultate der Suspensions- und Seidenfadenversuche hervorgeht.

Der Formaldehydgehalt der Desinfektionslösung wurde nach der Methode von Romijin bestimmt. Die Konzentrationsangaben sind als Gramme in 100 ccm Desinfektionslösung zu verstehen.

Die Herstellung der methylalkoholfreien Formaldehydlösung erfolgte nach einem Vorschlage des Herrn Dr. Traxl durch Auflösen von Paraformpastillen in wässeriger Natronlauge und Abdestillieren des Formaldehydes aus dieser Lösung.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 bis 5 dargestellt.

Tabelle 1.

Versuche mit Waschen der Keime.

Wirkung von Formalin (methylalkoholhältig) auf Staphylokokken in Suspension. Zweimaliges Zentrifugieren und Dekantieren. Temperatur 20° C.
H An = Höchste Anwachsungszeit in Minuten.
N Ab = Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten.

	Versuch Nr.	1	2	3	4
	Keimzahl von 1 ccm des Gemisches Suspension-Desinfektionsmittel in Millionen	52	140	250	140
	In den Nährboden überimpfte Keimzahl in Millionen	19	24	36	20
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung	Höchste Anwachsungszeit in Minuten	40	60	40	60
	Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten	60	80	60	80
	Überimpfte Keimzahl in Millionen	0,4	1,2	2,0	1,2

Konzentration des Formaldehydes in %	Versuch Nr. 1		2		3		4	
	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab
16,00				5	5	15	5	15
8,00				5	15	30	5	15
4,00	15	30	15	30	30	45	30	45
2,00	30	45	60	120	45	60	60	120
1,00	120	240	120	240	60	120	60	120
0,50	240	360	120	240	120	240	120	240
0,25	240		480	600	480	600	240	480

Bei den einzelnen Konzentrationen wurden bei jedem Einzelversuche fünf Überimpfungen vorgenommen. Der Raumersparnis halber ist nicht das Resultat jeder Überimpfung angegeben, sondern bloß die höchste Anwachsungszeit und die niedrigste sichere Abtötungszeit.

Tabelle 2.

Versuche mit Ammoniaknachbehandlung.

Wirkung von Formalin (methylalkoholhältig) auf an Seidenfäden angetrocknete Staphylokokken. Temperatur 20° C.

H An = Höchste Anwachsungszeit in Minuten.
N Ab = Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten.

	Versuch Nr.	1	2	3	4
Überimpfte Keimzahl in Millionen		0,3	2,2	32,0	16,0
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung	Höchste Anwachungszeit in Minuten	100	10	60	120
	Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten	120	20	80	140
	Überimpfte Keimzahl in Millionen	0,1	0,4	3,2	1,6

Konzentration des Formaldehydes in %	Versuch Nr. 1		2		3		4	
	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab
16,00	2	3	5	10	5	10		4
8,00	5	10		3	15	20	8	10
4,00	15	30	5	8	30	45	30	40
2,00	45	60	15	20	45	60	50	60
1,00	60	120	120			45	120	180
0,50	120	180	60	120	240	300	180	240
0,25	180	240	300	360	240	300	360	420

Tabelle 3.

Versuche mit Ammoniaknachbehandlung.

Wirkung von methylalkoholfreiem Formaldehyd auf an Seidenfäden angetrockneten Staphylokokken. Temperatur 20° C.

H An = Höchste Anwachsungszeit in Minuten.
N Ab = Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten.

	Versuch Nr.	1	2	3
Überimpfte Keimzahl in Millionen		80,0	9,6	4,0
Resistenz der Staphylokokken gegen 1-proz. Phenollösung	Höchste Anwachungszeit in Minuten	140	100	140
	Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten	160	120	160
	Überimpfte Keimzahl in Millionen	8,0	1,0	0,8

Konzentration des Formaldehydes in %	Versuch Nr. 1		2		3	
	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab
32,00			2	5	1	2
16,00	5	8			2	5
8,00	8	10	8	10	8	10
4,00	10	20	15	20	15	20
2,00	40	60	40	60	30	40
1,00	60	80	80	100	80	100
0,50	120	180	180	240	180	240
0,25	360	420	300	360	360	420

Tabelle 4.

Versuche mit Ammoniaknachbehandlung.

Wirkung von Formalin (methylalkoholhältig) auf an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen. Dampfresistenz der Milzbrandsporen: 4 Minuten (3% Traubenzuckerbouillon mit 5% Pferdeserum). Überimpfte Keimzahl: 0,21 Millionen. Temperatur 20° C.

H An = Höchste Anwachsungszeit in Minuten.
N Ab = Niederste sichere Abtötungszeit in Minuten.

Konzentration des Formaldehydes in %	Versuch Nr. 1		2	
	H An	N Ab	H An	N Ab
32,00	5	10	10	15
16,00	20	30	15	30
8,00	60	120	60	120
4,00	120	240	120	240
2,00	240	480	240	480
1,00	480	720	480	720
0,50	720	1440	720	1440
0,25	1440	2880	1440	2880

Tabelle 5.

Versuche mit Ammoniaknachbehandlung.

Wirkung von methylalkoholfreiem Formaldehyd auf an Seidenfäden angetrockneten Milzbrandsporen. Dampfresistenz der Milzbrandsporen: 4 Minuten (3% Traubenzuckerbouillon mit 5% Pferdeserum). Überimpfte Keimzahl: 0,21 Millionen. Temperatur 20° C.

H An = Höchste Anwachsungszeit in Minuten.
N Ab = Niederste Abtötungszeit in Minuten.

Konzentration des Formaldehydes in %	Versuch Nr. 1		2		3	
	H An	N Ab	H An	N Ab	H An	N Ab
20,00	15	30	20	30	20	30
16,00	15	30	20	30	20	30
8,00	60	120	60	120	60	120
4,00	120	240	120	240	120	240
2,00			240	480	240	480
1,00			480	720	480	720
0,50			720	1440	720	1440
0,25			1440	2880	1440	2880

Die Durchsicht der Tabellen zeigt, daß die vorliegenden Versuche mit Staphylokokken die Angaben der älteren Autoren hinsichtlich der höchsten Anwachsungszeiten zum Teil weit übertreffen. Nur Paul und Prall und Croner fanden ebensolche Anwachsungszeiten. Dagegen wurden bei Milzbrandsporen die höchsten Anwachsungszeiten niedrigerer ermittelt als sie Xylander angibt, obwohl der verwendete Stamm fast ebenso dampfresistent war (4 Minuten) wie Xylanders resistenterer Stamm und ein optimaler Nährboden (Albuminbouillon mit Traubenzuckerzusatz) genommen wurde. Offenbar bedingt gleiche Dampfresistenz zweier Stämme nicht auch gleiche Resistenz gegen Formaldehyd.

Croners Feststellung hinsichtlich der Verringerung der desinfizierenden Wirkung von Formaldehydlösungen gegenüber Styphylokokken durch Methylalkoholzusatz wurde durch die vorliegenden Versuche bestätigt. Für Milzbrandsporen konnte ein gleiches Verhalten wenigstens bezüglich jener Methylalkoholmengen, wie sie im käuflichen Formalin vorkommen, nicht festgestellt werden. Schließlich ergaben die vorliegenden Versuche, daß eine weit größere Abhängigkeit der Abtötungszeit von der Konzentration des Desinfektionsmittels besteht, als es nach den älteren Versuchen mit Ausnahme jener von Oehmichen schien.

III. Chemische Versuche mit wässerigen Formaldehydlösungen.

Die Methodik der chemischen Versuche war im allgemeinen dieselbe, wie bei den Sublimatversuchen[15]. Zunächst wurde das Verhalten des Formaldehydes gegenüber des wichtigsten Vertreters der in der Zelle vorhandenen Stoffe (Eiweißkörper, ölige Phase) klargestellt. Als Vertreter der Eiweißkörper wurde hitzekoaguliertes Eiweiß, als Vertreter der öligen Phase Kottonöl genommen. Dann wurden diese Grundversuche durch Versuche mit Hefe ergänzt.

Stückchen koagulierten Rinderserums bzw. Öltropfen bzw. Hefestückchen wurden mit verschieden konzentrierten Formaldehydlösungen durch verschiedene Zeiten in Berührung gebracht und hernach der Formaldehydgehalt der Flotte nach der Methode von Romijin bestimmt. Aus der Differenz des Formaldehydgehaltes der Ausgangs- und der Endflotte wurde unter Berücksichtigung der Zusammensetzung des Rinderserumkoagulums bzw. der Hefe und der Volumsvermehrung der Flotte durch den Wassergehalt dieser Körper die pro 1 g Eiweiß des Koagulums bzw. 1 g Öl bzw. 1 g organischer Bestandteile der Hefe verschwundene Formaldehydmenge berechnet. Die Einzelheiten dieser Methodik und die Art der Berechnung der Versuche wurde bereits a. a. O.[15]) beschrieben und ausführlich begründet, weshalb an dieser Stelle nur auf die diesbezüglichen Ausführungen verwiesen zu werden braucht. Die Darstellung der methylalkoholfreien Formaldehydlösung wurde bereits bei den Desinfektionsversuchen besprochen.

Die pro 1 g Eiweiß des Koagulums verschwundene Formaldehydmenge zeigte sich nach 8-tägiger Berührung unabhängig von der Konzentration der Flotte als eine sehr konstante Größe, was beweist, daß das aus der Flotte verschwundene Formaldehyd eine chemische Bindung mit dem Eiweiß des Koagulums eingegangen war und daß Lösungsbeziehungen

zwischen diesen beiden Stoffen nicht bestehen. Die Bindungsgröße betrug im Mittel von 10 Versuchen für 100 g hitzekoaguliertes Eiweiß

11,2995 ± 2,014 (Variationskoeffizient = 17,82%).

Der mittlere Fehler der Einzelmessung betrug daher ± 2,014, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,637.

Nach der Berührungszeit von drei Tagen zeigte sich eine Abhängigkeit der pro 1 g Eiweiß des Koagulums verschwundene Formaldehydmenge von der Konzentration der Endflotte. Bei höheren Konzentrationen war mehr Formaldehyd verschwunden als bei niederen Konzentrationen. Hier war infolge der Kürze der Berührungszeit das Gleichgewicht noch nicht erreicht.

Das Resultat dieser Versuche ist in der folgenden Tabelle dargestellt.

Dauer der Berührung von Koagulum und Formaldehydlösung	Koagulum	Gewicht des Koagulums g	Formaldehydgehalt Ausgangsflotte % g/ccm	Formaldehydgehalt Endflotte % g/ccm	Pro ein Gramm Eiweiss des Koagulums verschwundene Formaldehydmenge g
3 Tage	II.	19,5620	5,2404	4,3404	0,0718
	II.	19,6422	3,9304	3,2594	0,0500
	II.	21,5642	1,3101	1,0446	0,0301
8 Tage	I.	10,1385	5,6414	5,0504	0,1363
	II.	19,5620	5,2404	4,3164	0,08665
	I.	12,6171	4,2320	3,6514	0,1323
	II.	19,6422	3,9304	3,1697	0,1054
	I.	11,4258	2,8207	2,4447	0,1171
	II.	20,6037	2,6202	1,9391	0,1191
	I.	12,7612	1,4104	1,1317	0,1270
	II.	21,5642	1,3101	0,9191	0,1021
	I.	11,5705	0,5641	0,4382	0,07580
	I.	8,7699	0,2821	0,1666	0,1282

Bei den zwei verwendeten Koagulumpartien betrug das

	I	II
Relative Gewicht in g/g an Eiweiß	9,090	9,651
Relative Volumen in ccm/g an wäßriger Kochsalzlösung	90,88	90,03

Die Versuche mit Kottonöl als Vertreter der lipoiden Phase ergaben, daß sich Formaldehyd zwischen Öl und Wasser nach einem ziemlich konstanten Faktor verteilt, dessen mittlerer Wert (4 Versuche) 0,2428 ± 0,0171 (Variationskoeffizient = 7,03%) betrug. Der mittlere Fehler der Einzelmessung ergab ± 0,0171, der mittlere Fehler des Mittelwertes ± 0,0085. Die Resultate der Versuche mit Kottonöl, zu denen je 50 ccm Formaldehydlösung genommen wurden, sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Nach diesem Befunde besteht also zwischen Formaldehyd und Öl ein echtes Lösungsverhältnis, wobei dem Formaldehyd in beiden Phasen dasselbe Molekulargewicht zukommt. Die Lipoidlöslichkeit des Formaldehydes ist ziemlich gering. Nur ungefähr der fünfte Teil des in der Gewichtseinheit der wäßrigen Phase vorhandenen Formaldehydes geht in

Versuch Nr.	Gewicht des Öles g	Ausgangsflotte		Endflotte		Pro 100 g Öl verschwundene Formaldehydmenge	Gewichtsverteilungsfaktor Öl-Wasser für Formaldehyd
		%g/ccm	absolut g	%g/ccm	absolut g		
1	5,0300	2,6627	1,3314	2,6027	1,3014	0,596	0,2291
2	4,7240	1,5976	0,7988	1,5646	0,7820	0,354	0,2262
3	5,0545	1,0670	0,5335	1,0400	0,5200	0,267	0,2568
4	3,9380	0,5326	0,2663	0,5220	0,2610	0,135	0,2574

die Gewichtseinheit Öl über. Das Verteilungsverhältnis ist also ähnlich dem für Sublimat zwischen Öl und Wasser festgestellten.

Die Versuche mit Hefe ergaben, daß bereits nach 6-stündiger Berührungsdauer die pro 1 g organisches Bestandteil der Hefe verschwundene Formaldehydmenge unabhängig von der Konzentration der Flotte annähernd die gleiche Größe hatte. Dies traf auch für die späteren Berührungszeiten zu, nur nahmen hier die Werte bis zu einer Berührungszeit von zwei Tagen zu. Eine Verlängerung der Berührungsdauer auf 3 und 8 Tage hatte praktisch keine weitere Erhöhung der Werte zur Folge. Diese Tatsache beweist, daß das Formaldehyd auch mit den organischen Stoffen der Hefe — in erster Linie natürlich mit den Eiweißkörpern der Hefe — eine chemische Bindung eingeht. Der mittlere Wert des Formaldehydbindungsvermögens von 100 g organische Bestandteile der Hefe, Variationskoeffizient, mittlerer Fehler der Einzelmessung und des Mittelwertes sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Dauer der Berührung von Hefe und Formaldehydlösung	Anzahl der Versuche	Formaldehydbindungsvermögen von 100 Gramm organische Bestandteile der Hefe			
		Mittlerer Wert	Variationskoeffizient	Mittlerer Fehler	
				Einzelmessung	Mittelwert
6 Stunden	4	3,338 ± 0,6839	20,49 %	± 0,6839	± 0,3420
1 Tag	4	3,875 ± 0,4614	11,91 %	± 0,4614	± 0,2307
2 Tage	4	6,535 ± 0,3520	5,39 %	± 0,3520	± 0,1760
3 Tage	4	6,800 ± 0,9806	14,42 %	± 0,9806	± 0,4903
8 Tage	4	7,295 ± 0,0387	0,53 %	± 0,0387	± 0,0194

Wie a. a. O.[15]) dargelegt wurde, besteht die organische Substanz der Hefe aus rd. 60% Protein. Da natürlich zum Eingehen einer chemischen Bindung mit dem Formaldehyd unter den Stoffen, aus denen die Hefe besteht, in erster Linie Eiweißkörper in Betracht kommen, so können die gefundenen Werte direkt auf Eiweiß bezogen werden. Somit ergibt sich in erster Annäherung als Formaldehydbindungsvermögen von 100 g Eiweißkörper der Hefe

bei 6-stündiger Berührung . . . . 5,562 ± 1,140
bei 1-tägiger Berührung . . . . . 6,458 ± 0,768
bei 2-tägiger Berührung . . . . . 10,891 ± 0,587
bei 3-tägiger Berührung . . . . . 11,333 ± 1,634
bei 8-tägiger Berührung . . . . . 12,158 ± 0,0645.

Diese Werte zeigen eine weitgehende Übereinstimmung mit den bei den Versuchen mit Rinderserumkoagulum gefundenen, so daß sich auch hier, wie bei den Sublimatversuchen, zeigt, daß sich die mit koaguliertem Rinderserum erhaltenen Resultate auf Zelleiweiß übertragen lassen.

Nach einstündiger Berührungszeit besteht ein gewisser Zusammenhang zwischen der pro Gramm organische Bestandteile der Hefe verschwundenen Formaldehydmenge und der Konzentration. In diesem Falle war offenbar infolge der Kürze der Berührungszeit das Gleichgewicht noch nicht erreicht.

Die Resultate der Einzelversuche sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Dauer der Berührung von Hefe und Formaldehydlösungen	Hefe	Gewicht der Hefe	Formaldehydgehalt		Pro ein Gramm organische Substanz der Hefe verschwundene Formaldehydmenge
			Ausgangsflotte % g/ccm	Endflotte % g/ccm	g
1 Stunde	III.	17,0570	10,2750	9,0455	0,0321
	III.	12,9870	7,6063	6,8845	0,0285
	III.	16,7500	5,1375	4,5295	0,0172
	III.	10,7730	2,5688	2,3608	0,0103
6 Stunden	III.	17,0570	10,2750	9,0222	0,0378
	III.	12,9870	7,6063	6,8764	0,0303
	III.	16,7500	5,1375	4,5056	0,0298
	III.	10,7730	2,5688	2,2928	0,0356
1 Tag	II.	13,5085	9,5500	8,5842	0,0364
	II.	11,0010	4,7750	4,3251	0,0373
	II.	8,8340	1,9100	1,6992	0,0456
	II.	10,7850	0,4775	0,3534	0,0357
2 Tage	I.	12,4500	6,0300	5,3432	0,0661
	I.	11,8480	3,5524	3,0753	0,0700
	I.	10,0820	1,7762	1,5022	0,0622
	I.	9,7880	0,8881	0,6765	0,0631
3 Tage	II.	13,5085	9,5500	8,4811	0,0734
	II.	11,0010	4,7750	4,2343	0,0725
	II.	8,8340	1,9100	1,6421	0,0728
	II.	10,7850	0,4775	0,3084	0,0533
8 Tage	II.	13,5085	9,5500	8,4813	0,0734
	II.	11,0010	4,7750	4,2342	0,0725
	II.	8,8340	1,9100	1,6422	0,0728
	II.	10,7850	0,4775	0,2581	0,0731

Bei den drei verwendeten Hefen betrug das

	I	II	III
Relative Gewicht in g/g an organischen Hefebestandteilen	26,739	25,315	26,815
Relative Volumen in ccm/g an wäßriger Kochsalzlösung	70,26	72,65	70,16

Es kommt also bei der Einwirkung von Formaldehyd auf Mikroorganismen nur zur Entstehung chemischer Bindungen zwischen dem

Formaldehyd und den Eiweißkörpern der Mikroorganismen; nicht aber zum Auftreten irgendwelcher Lösungsbeziehungen. Die volle Bindungsgröße wird bei der Hefe nach zweitägiger Berührungsdauer erreicht. Bei kurzer Berührungszeit (1 Stunde) zeigt sich infolge Nichterreichens des Gleichgewichtszustandes eine Abhängigkeit der Bindungsgröße von der Konzentration der Formaldehydlösung. Hier wurden bei höherer Konzentration der Flotte von der gleichen Menge Eiweiß mehr Formaldehyd gebunden als bei niederer. Es ist also die Bindungsreaktion zunächst von der Diffusionsgeschwindigkeit abhängig. Diese Feststellung ist, wie eingangs auseinandergesetzt wurde, für unseren Fall von Wichtigkeit. Sie macht die Abhängigkeit der Desinfektionsdauer von der Konzentration der Desinfektionslösung für die desinfizierende Formaldehydwirkung, bei der nach dem Resultat der chemischen Versuche die Desinfektionswirkung nur auf chemischer Bindung beruht, erklärlich.

Die vorliegenden Versuche bestätigen die Schlußfolgerungen, die Herzog und Betzel[17]) aus ihren Versuchen ziehen, daß nämlich bei der Berührung von Hefe und Formaldehydlösungen von der gleichen Menge Hefe eine gleich große von der Konzentration der Flotte unabhängige Menge Formaldehyd gebunden werden, wobei allerdings bezüglich des festgestellten Wertes der Bindungsgröße ein Unterschied besteht. Nach diesen Versuchen ist das Formaldehydbindungsvermögen von 100 g Eiweiß der Hefe nach 6-stündiger Berührung 5,562 $\pm$ 1,140 (Var.-Koeff. = 20,49%), nach den Versuchen von Herzog und Betzel 3,269 $\pm$ 0,898 (Var.-Koeff. = 27,41%). Derartige Unterschiede sind jedoch bei der Ungenauigkeit der Methodik und bei der Variabilität des verwendeten Versuchsmateriales leicht erklärlich.

IV. Die Resistenzgleichungen.

Berechnet man nach dem Vorgange von Reichel[18]) die sich aus unseren Versuchen und denen von Paul und Prall und von Croner ergebenden Resistenzgleichungen, so zeigt sich, daß für den vorliegenden Fall in der allgemeinen Resistenzgleichung $T \cdot HCOH\%\ ^{n}K$, der Wert K bei dem Exponenten $n = 1$ der Konstanz am nächsten kommt, daß somit die Beziehung zwischen Desinfektionsdauer (T) und der Konzentration der Formaldehydlösung durch die Formel der gleichseitigen Hyperbel bezogen auf die Asymptoten als Koordinatenachsen ausgedrückt ist.

Es ergaben sich nämlich aus den erhaltenen Grenzwerten der eigenen Versuche und der Versuche der obigen Autoren die in der Tabelle auf der folgenden Seite angegebenen Werte für den Exponenten $n = 1$. Der in die Gleichung einzusetzende K-Wert muß natürlich aus naheliegenden Gründen höher liegen als der höchste Minimalwert.

Die berechneten Gleichungen lauten:

für Staphylokokken bei Formalin (methylalkoholhältig) . . . . . . $T \cdot HCOH\% = 130$

für Staphylokokken bei methylalkoholfreiem Formaldehyd . . . . $T \cdot HCOH\% = 100$

für Milzbrandsporen bei Formalin (methylalkoholhältig) und methylalkoholfreiem Formaldehyd . . . . $T \cdot HCOH\% = 500$,

worin die zu den betreffenden Konzentrationen gehörende Abtötungszeit T in Minuten angegeben ist.

HCOH %	Staphylokokken				Milzbrandsporen Formalin (methylalkoholhältig) und methylalkoholfreies Formaldehyd	
	Formalin (methylalkoholhältig)		methylalkoholfreies Formaldehyd			
	sicher über	wahrscheinlich unter	sicher über	wahrscheinlich unter	sicher über	wahrscheinlich unter
0,25	120	150	90	105	360	720
0,50	120	150	90	120	360	720
1,00	120	180	80	100	480	720
2,00			70†)	90†)		
2,00	120	240	80	120	480	960
3,00	120*)	180*)	75†)	105†)		
4,00	120	160	60	80	480	960
4,00			64†)	100†)		
8,00	120	160	64	80	480	960
16,00	80	160	80	128	320	480
20,00					400	600
32,00			64	160	320	480

Die Gleichungen besagen, daß das Produkt von Desinfektionsdauer in Minuten und Konzentration der Desinfektionslösung einen konstanten Wert, und zwar für den verwendeten Staphylokokkenstamm bei Formalin (methylalkoholhältig) 130, bei methylalkoholfreiem Formaldehyd 100, für den verwendeten Milzbrandstamm sowohl bei Formalin (methylalkoholhältig) wie bei methylalkoholfreiem Formaldehyd 500 betragen muß, wenn diese Keime durch wässerige Formaldehydlösungen abgetötet werden sollen.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die vorliegenden Versuche haben ergeben, daß das Formaldehyd mit den Eiweißkörpern, als deren Vertreter koagulierter Rinderserum genommen wurde, chemische Bindung, mit den Lipoiden, als deren Vertreter Kottonöl genommen wurde, Lösungsbeziehungen eingeht, wobei das Molekulargewicht in beiden Phasen dasselbe ist. Im Gleichgewichtszustande bindet 1 g des verwendeten Eiweißes ungefähr ein Zehntelgramm Formaldehyd, in ein Gramm Öl geht ungefähr ein Fünftel jener Menge über, die in der Gewichtseinheit wäßriger Flotte vorhanden ist. Versuche mit Hefe als Vertreter der Mikroorganismen zeigten, daß es auch hier zur Bildung von Formaldehydverbindungen mit den Eiweißkörpern der Hefe kommt.

Die volle Bindungsgröße wird erst nach einer längeren Zeit der Berührungsdauer (bei Hefe 2 Tagen) erreicht. Bei kurzer Berührungszeit erweist sich die Bindungsgröße als abhängig von der Konzentration der Flotte an Formaldehyd. Diese festgestellte Tatsache macht den Gang der Desinfektionszeit mit der Konzentration der Desinfektionslösung für die desinfizierende Formaldehydwirkung, bei der

*) Nach Versuchen von Paul und Prall[9]).
†) Nach Versuchen von Croner[2]).

nach den vorliegenden Versuchen die Desinfektionswirkung nur auf chemischer Bindung beruht, erklärlich.

Die Desinfektionsversuche zeigten, daß die Konzentration der Formaldehydlösung von weit größerem Einfluß für die Desinfektionszeit ist als die früheren Autoren mit Ausnahme von Oemichen fanden. Sie bestätigten ferner den schon von früheren Autoren erhobenen Befund, daß die Art der Nachbehandlung — Waschen mit bloßem Wasser oder Waschen mit verdünnter Ammoniaklösung — keinen Einfluß auf das Resultat der Versuche hat. Aus dieser Tatsache läßt sich schließen, daß durch Ammoniak die Verbindung zwischen Formaldehyd und den Eiweißkörpern der Keime nicht gesprengt wird, was in praktisch hygienischer Beziehung hinsichtlich der Desinfektion von solchen Objekten von Bedeutung ist, die hinterher in ein Medium gelangen, in dem es zur Bildung von Ammoniak kommt, oder in denen sich selbst dieser Stoff entwickeln kann. Die Befunde Croners, daß die Desinfektionswirkung von Formaldehydlösungen gegenüber Staphylokokken durch Methylalkoholzusatz verringert wird, konnten bestätigt werden. Hinsichtlich der Milzbrandsporen wurde ein gleiches Verhalten, wenigstens bezüglich jener Methylalkoholmengen, wie sie in käuflichem Formalin vorkommen, nicht gefunden.

Die Beziehungen von Desinfektionsdauer zur Konzentration der Desinfektionslösung, wie sie sich für die verwendeten Stämme ergaben, wurden nach dem Vorgange von Reichel durch Gleichungen ausgedrückt, die in der folgenden Zusammenstellung zugleich mit dem Konzentrationsbereich, für den diese Gleichungen Geltung haben, wiedergegeben sind, wobei die Desinfektionszeit T in Minuten angegeben ist.

Keime	Formalin (methylalkoholhältig)		methylalkoholfreies Formaldehyd	
	Gleichung	untersuchter Konzentrationsbereich	Gleichung	untersuchter Konzentrationsbereich
Staphylokokken	$T \cdot HCOH\,\% = 130$	0,25—16,00%	$T \cdot HCOH\,\% = 100$	0,25—32,00%
Milzbrandsporen	$T \cdot HCOH\,\% = 500$	0,25—32,00%	$T \cdot HCOH\,\% = 500$	0,25—32,00%

Zur Auffindung der Desinfektionsdauer T dienen folgende Tabellen:

A. Staphylokokken.

1. Formalin (methylalkoholhältig).

HCOH %	0,25	0,50	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
$T=$ in Minuten	520	260	130	65	43	33	26	13	9	7	5	4
$T=$ in Stunden	8,67	4,33	2,17	1,08								

2. methylalkoholfreies Formaldehyd.

$T=$ in Minuten	400	200	100	50	33	25	20	10	7	5	4	3
$T=$ in Stunden	6,67	3,33	1,67									

B. Milzbrandsporen.

Formalin (methylalkoholhältig) und methylalkoholfreies Formaldehyd.

HCOH %	0,25	0,50	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
$T=$ in Minuten	2000	1000	500	250	167	125	100	50	33	25	20	17
$T=$ in Stunden	33,33	16,67	8,33	4,17	2,78	2,08	1,67					

Literatur.

1. Xylander, A. K. G. 26, 1907.
2. Croner, Zeitschr. f. Hyg. 78, 1914.
3. Pottevin, Annales de l'Institut Pasteur, 1894.
4. Ascoli, ref. C. f. B. 17, 1895.
5. Oemichen, A. K. G. 11, 1895.
6. Walter, Zeitschr. f. Hyg. 21, 1896.
7. Kroenig und Paul, Zeitschr. f. Hyg. 25, 1897.
8. Hammer und Feitler, C. f. B. 24, 1898.
9. Paul und Prall, A. K. G. 26, 1907.
10. Seligmann, Desinfektion Nr. 1, 1908.
11. Slater und Rideal, Lanceth, 21, 1889.
12. Blum, Münchn. med. Wochenschr. Nr. 32, 1893.
13. Gegner, ebenda.
14. Reischauer, zit. nach Börner, C. f. B. 53, 1910.
15. Gegenbauer, Arch. f. Hygiene 90, 1921.
16. Ohira, C. f. B. 85, 1920.
17. Herzog und Betzel, Zeitschr. f. physiol. Chemie 67, 1910; 74, 1911.
18. Reichel, Biochem. Zeitschr. 22, 1909.

Kritische Untersuchung über die Ätiologie der Influenza.

Von

Dr. Carl v. Angerer.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Erlangen.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 15. Juni 1921.)

Die Ätiologie der Influenzapandemie von 1918/19 ist eine noch nicht einwandfrei beantwortete Frage. Folgende Befunde von Mikroorganismen werden berichtet: 1. die Pfeifferschen Influenzabazillen, 2. ein filtrierbares oder invisibles Virus, 3. Strepto- oder Diplokokken, 4. pestähnliche Bazillen (Literatur über diese siehe Coronini und Priesel 167).

Letztere können wegen der Seltenheit ihres Nachweises wohl keinen Anspruch auf Anerkennung erheben, und von den Streptokokken ist jetzt wohl allenthalben anerkannt, daß sie nur sekundäre Ansiedler sind. In Betracht kommen daher nur die unter 1. und 2. aufgeführten Organismen. Die folgende Tabelle soll einen Überblick über den positiven oder negativen Nachweis der Influenzabazillen (abgekürzt I.B.) bis November 1920 geben. Als Datum wurde bei Abhandlungen der Tag des Erscheinens der betreffenden Zeitschriftnummer, bei Vorträgen und Diskussionsbemerkungen der Tag der Sitzung angegeben und in letzterem Fall durch einen Stern kenntlich gemacht. Die Auszüge, welche nicht etwa Referate ersetzen sollen, mußten des Raummangels halber im Telegrammstil abgefaßt werden; aus dem gleichen Grund wurden auch die umfangreichen Arbeiten in den Spezialzeitschriften in diese Tabelle nicht aufgenommen. Literaturangaben siehe am Schluß der Arbeit.

Beim Überblick über diese Tabelle fällt die schon mehrfach diskutierte Tatsache auf, daß bei Epidemiebeginn die negativen, späterhin die positiven Befunde überwiegen; insbesondere finden sich Angaben über hohe Prozentsätze positiver Untersuchungen oder über regelmäßiges Vorkommen von I.B. erst etwa von Oktober an. Die graphische Darstellung, auf deren Wiedergabe hier verzichtet werden muß, ergibt das gleiche Bild, das übrigens wegen der häufig fehlenden Angaben der Prozentzahlen und der Untersuchungszeiten nicht völlig scharf sein kann. Im übrigen geben viele Autoren an (1, 24, 127; 57, 98; 80, 131; 28, 79; 108; 109; 117,

(Fortsetzung des Textes S. 261.)

Nr.	Zeit	Autor und Ort	Befund
	1918 Juli		
1	5.*	Friedberger, Greifswald	Sputa mikr. neg., kult. vereinzelt pos. Entnahme durch Bronchoskop aus der Tiefe. Negat. Meerschweinchenimpfung mit Filtrat.
2	8.	Kroner	Nase, Rachen, Blut I.B. neg.
3	9.*	Brasch, München	Sputa neg.
4	9.*	Oberndorfer, München	Sektionen neg.
5	9.*	Mandelbaum, München	Negative Untersuchungen des ganzen Bronchialbaums. Frühere Jahre I.B. nachgewiesen. Immunitätstheorie. „Neues Virus".
6	9.*	v. Gruber, München	Im Jahre 1889 I.B. nicht massenhaft vorhanden.
7	9.*	Rimpau, München	Zahlreiche Untersuchungen neg.
8	9.*	Schöppler, München	Negative Befunde (Sektionen).
9	9.*	Fr. v. Müller, München	Negative Befunde.
10	9.*	Dieudonné, München	Beobachtung über Infektion und Inkubation.
11	10.	Benda, Berlin	Schnitte mikr. neg.
12	11.	Pfeiffer, Breslau	Teils positive, teils negative Befunde.
13	11.	v. Gruber, München	I.B. bisher nicht gefunden.
14	11.	Friedemann, Berlin	I.B. bisher nicht als Erreger festgestellt.
15	11.	Uhlenhuth, Straßburg	Teils positive, teils negative Befunde.
16	12.	Silberschmidt, Zürich	I.B. bisher nicht nachweisbar.
17	14.	Bernhardt, Stettin	Sputum, Trachea, Rachen neg., Hustenplatte.
18	16.*	Kossel, Heidelberg	I.B. mehrfach nachgewiesen; IB.-Erreger.. Schwierigkeiten des Nachweises.
19	17.*	Lubarsch, Berlin	Sektionen; Blut neg., 1 von 14 Schnitten mikr. pos.
20	17.*	Citron, Berlin	Sputum und Blut neg.
21	17.*	A. W. Fischer, Halle	6 von 110 Sektionen pos., 1mal Milz pos.
22	17.*	Bennecke, Halle	Wie Nr. 5.
23	18.	Kolle, Frankfurt	Mikr. und kult. neg. bei verschiedenen Untersuchern.
24	19.*	Friedberger, Greifswald	Vereinzelte I.B. besagen nichts. Negative Filtratinhalationen.
25	19.*	Ganter, Greifswald	I.B. neg., Kontagiosität gering.
26	23.*	Hübschmann, Leipzig	Schwerkranke und Leichen I.B. neg. wegen Verdrängung durch sekundäre Keime. Auswahl des Materials! I.B. in einigen Fällen pos.
27	23.*	Kruse, Leipzig	Kritik an I.B. Negative Impfung mit Filtrat.
28	23.*	Oeller, Leipzig	„Keine charakteristischen Merkmale für Ätiologie".
29	23.*	Fleischmann, Berlin	I.B. in einigen Fällen nachgewiesen.
30	23.*	Hesse, Halle	Nur Streptokokken.
31	25.	Gotschlich, Gießen	3 von 23 Sputis kult. pos.
32	25.	Kisskalt, Kiel	I.B. nicht als gefunden erwähnt.
33	25.	Schürmann, Halle	3 Sputa kult., 1 mikr. pos., viele andere neg.

Nr.	Zeit	Autor und Ort	Befund
	Juli		
34	27.*	Uhlenhuth, Straßburg	I. Serie: Sputa 25% pos., 1 von 4 Rachen, 1 von 3 Empyemen pos.; II. Serie: 33 von 86 Sputis, 22 von 47 Kranken pos. 100 normale Rachen neg., Affe durch Tröpfchen (Sputum und Reinkultur) erfolglos geimpft. Hinweis auf technische Fehler.
35	27.*	Rose, Straßburg	Sputa 18% pos., davon 15% Reinkultur. Blut neg.
36	29.	Levinthal, Feld	Kulturtechnik.
	Aug.		
37	1.	Levinthal	200 Fälle pos.
38	6.	Simmonds, Hamburg	Sputa und Sektionen mikr. und kult. zahlreich pos.
39	6.	Schöppler, München	Sektionen neg.
40	8.	Edelmann, Wien	Paratyphus bei Grippe gefunden.
41	13.	G. B. Gruber u. Schädel, Mainz	14 von 250 Sputis frisch Erkrankter pos. Gegen I.B.
42	16.*	Dietrich, Feld	I.B. mikr. u. kult. nachgewiesen; I.B. = Erreger
43	19.	Meyer u. Bernhard, Stettin	28 Sektionen neg.
44	22.	v. Bergmann, Marburg	9 von 10 Sputis, I.B. = Erreger.
45	22.	Hirschbruch, Metz	1 bis 3 von 16 Sektionen pos., Sputa nur in einigen wenigen Fällen.
46	22.	Schmorl, Dresden	Seit Anfang Juli 3 Sektionen pos., 7 neg., Lebende stets neg.
47	22.	Koepchen, Bonn	I.B. nicht nachgewiesen.
48		Selter, Königsberg	2 pos. Filtratinhalationen.
49	24.	Glaus u. Fritsche, Basel	I.B. vielleicht in einigen Sektionen nachgewiesen.
	Sept		
50	2.*	B. Fischer, Frankfurt	70 Sektionen neg.
51	2.*	Wachter, Frankfurt	Empyeme: I.B. nicht als gefunden erwähnt.
52	4.*	Silbergleit, Ingolstadt	I.B. neg.
53	5.	Stein u. Weißmann, Zagreb	I.B. gefunden.
54	9.*	v. Wießner, Wien	Vereinzelt I.B.
55	9.*	Kahler, Wien	25% pos.
56	29.	Schiemann, Koblenz	4 von 12 Fällen pos., I.B. = Erreger.
57	29.	Deussing, Hamburg	70 akute Fälle neg., 2 von 22 katarrh. Pneum. pos.
	Okt.		
58	1.	E. Goldschmidt, Frankf.	Vom 23. VI. bis 24. VII. 85 Fälle neg. „I.B. muß ausscheiden".
59	8.*	Ghon, Prag	5. bis 26 Oktober 41% der Sektionen pos.
60	8.	v. Hoeßlin, Germersheim	I.B. häufig nachgewiesen; innere Organe pos. 2 von 10 Blut pos.
61	13.	Becher, Gießen	I.B. beim kleineren Teil der Fälle pos. ($^1/_7$).
62	17.*	Stählin, Basel	Gegen I.B.
63	17.*	Hedinger, Basel	Primäres Virus wie bei Scharlach; I.B. selten nachweisbar.
64	20.	Alexander, Westfront	2mal I.B. pos., 60 von 100 Fällen I.B.-ähnliche, aber bewegliche, nicht hämoglobinophile Stäbchen.
65	20.	Schwermann, Alpirsbach	Sputum sehr häufig, Nase häufig pos.

Nr.	Zeit.	Autor und Ort	Befund
	Okt.		
66	24.	Neufeld und Papamarku, Berlin	„Bei einer Anzahl“ I.B gefunden. Von 1912 bis Epidemie I.B. stets neg. Neuerdings mehrfach Mischinfektion bei Tbc. Auswahl des Materials! Technik!
67	24.*	v. Wiesner, Wien	Sputa häufig, aber nicht Mehrzahl pos. Nase häufig, Sektion ausnahmsweise pos.
68	24.*	Knöpfelmacher, Wien	Tröpfcheninfektion. Virus flüchtig wie Masern.
69	24.*	Hedinger, Basel	I.B. nicht nachweisbar.
70	24.	Neuwirth und Weil, Trencsen	Sputa und Sektion I.B. weder kult. noch mikr. rös.
71	24.	Leitner, Isonzofront	Sputa 25%, Rachen 8%, I.B.-verdächtige Stäbchen.
72	29.	Oeller, Leipzig	Endotoxintheorie.
73	30.*	Michaelis, Berlin	1. Woche neg., dann reichlich pos.
74	30.*	Neufeld, Berlin	9 von 12 Sektionen, 7 von 20 Rachenabstr. pos., 2 von 5 norm. Rachen pos.
75	30.*	Seligmann, Berlin	„Kein Zweifel an regelmäßigem Vorkommen“.
76	31.*	E. Schwarze, Wien	Schwere Fälle örtlich gehäuft.
77	31.*	Pribram, Wien	I.B.-ähnliche Stäbchen im Material aus 4 Klinken; Kultur aus Sputum einer einzigen Klinik.
78	31.*	Moll, Wien	I.B. häufig, aber nicht regelmäßig vorhanden.
	Nov.		
79	3.	Oeller, Leipzig	I. Gruppe: I.B. nur bis Entfieberung, 8,5% pos., II. Gruppe I.B. länger nachweisbar, 24% pos. Blut und Sektion stark pos., Kontrollen neg.
80	3.	Korbsch, Feld	4 Wochen nach Epidemiebeginn 34,2% Sputa pos. Zitiert Vagedes: Mai und Juni neg., später pos.
81	4.*	Selter, Königsberg	1 mal in mehr als 100 Fällen I.B. gefunden.
82	4.	Rose, Festungslazarett	18% Sputa pos, davon 15% Reinkultur, Blut, Nase, Rachen neg.
83	6.*	v. Angerer, München	Kulturen kleinster Körperchen aus Filtraten.
84	7.	Jaffe, Wien	I.B. in einer Reihe von Fällen nachgewiesen.
85	8.*	Pfeiffer, Breslau	112 von 217 Sputis pos., enorme Bazillenzahl; 20 von 30 Pneumoniesektionen. Zurückbleiben von Herden nach Epidemie, daher auch bei Gesunden. Gegen filtrierbare Erreger 25,4% Tbc.-Sputa I.B. positiv.
86	8.*	Friedberger, Greisfwald	Negative Filtratimpfungen.
87	12.	v. Angerer, München	Wie Nr. 83.
88	14.*	Hoppe Seyler, Kiel	„I.B. und Kokken gefunden.“
89	14.	Materna und Pennecke, Troppau	74% pos.
90	18.*	Matthes, Königsberg	I.B. neg.
91	18.*	Frohmann, Königsberg	Wenig Hausinfektionen.
92	21.*	Leschke, Berlin	Mikr. u. kult. Nachweis kleinster Körperchen. Neg. u pos. Filtratinhalationen.

Nr.	Zeit	Autor uud Ort	Befund
	Nov.		
93	21.	Trawinski und Cori, Isonzofront	7 von 113 Sputis verdächtige Stäbchen, kult. neg. 2 von 66 Rachenabstr. mikr. pos.
94	21.	Wiener, Trencsen	I.B. nicht als gefunden erwähnt.
95	26.*	Rumpel, Hamburg	Gegen I.B., Virus ähnlich wie Masern; Sommer und Herbst I.B. nicht nachweisbar.
96	28.*	Elias, Wien	„Beweis für I.B. keineswegs erbracht".
97	28.*	Dörr, Wien	I.B. zuweilen durch sekundäre Keime unterdrückt; Kirchner (unter Dörr) 70% pos. Sektionen.
98	28.*	v. Wiesner, Wien	I.B. jetzt nachgewiesen; I.B. = Erreger.
99	28.*	Berblinger u. Emmerich. Kiel	Sektionen: Blut in 1. und 2. Welle neg.
100	28.*	Kißkalt, Kiel	„Ätiolog. Bedeutung der I.B. nicht erwiesen".
101	28.*	Wagner, Kiel	582 Rachenabstr., 200 Pleuren, Blutproben neg. In letzter Zeit 7 pos. Sektionen.
102	28.	Löwenfeld, Ostgalizien	52 von 85 Sputis pos.
103	29.*	Leichtentritt, Breslau	Ausführungen zu 85.
104	29.*	Rosenfeld, Breslau	1. Welle infektiöser als 2.
105	29.*	Pal, Wien	Erreger nicht festgestellt.
106	29.*	Coronini u. Priesel, Wien	U. a. auch I.B. gefunden.
107	29.*	Paltauf, Wien	I.B. nicht gefunden.
	Dez.		
108	3.	Sobernheim u. Novacovic, Bern	1. Periode 3 Sputa, 3 Sektionen pos., ab Okt. regelmäßig pos.
109	9.	W. Löwenfeld, Berlin	6. bis 26. Juli 5 von 38 Sputis; Oktober 15 von 47 Sputis, Tröpfcheninfektion, Hustenplatte.
110	9.	Mager, Brünn	30,1% pos.
111	10.*	Grätz, Hamburg	Gegen I.B. 4 von 1226 Proben pos.
112	10.	Binder u. Prell, Stuttgart	Änigmoplasmen mikr. u. kult. gefunden. 1 Probe I.B. pos.
113	14.*	Silberschmidt, Zürich	Gegen I.B. 7 von 70 Sputis, 13 von 45 Sektionen pos., Tröpfcheninfektion.
114	17.*	Wätjen, Freiburg	I.B. mikr. gefunden. Ätiologie ungewiß.
115	19.	Fromme, Düsseldorf	Tonsilben mikr. neg., kult. vielleicht pos. I.B. in tieferen Luftwegen. Hustenplatte.
116	19.	E. Fränkel, Heidelberg	20 von 70 Sputis, 8 von 11 Sektionen, 3 Kontrollen pos. Innere Organe pos.
117	19.	Lei htentritt, Breslau	112 von 217 Proben pos., davon 94 mikr. pos. Später 60% Sputa pos. 25% Kontrollen pos., zuweilen vorhergehende Erkrankung. Frisches Sektionsmaterial pos.
118	19.*	Kruse, Leipzig	Bei Beginn in Leipzig nur ausnahmsweise, jetzt 50% pos.
	1919 Jan.		
119	1.	Sahli, Bern	„Complexes Virus".
120	6.	Neufeld und Papamarku, Berlin	9 von 12 Sektionen, 2 von 25 Tonsilben nicht Grippekranker. Bazillenträger.
121	6.	Leschke, Berlin	Wie Nr. 92.
122	7.*	Simmonds, Hamburg	75% von 330 Sektionen pos.

Nr.	Zeit	Autor und Ort	Befund
	Jan.		
123	7.*	Olsen, Hamburg	76% von 215 Sektionen pos. Gegen filtr. Virus.
124	7.*	Fränkel, Hamburg	50% der Nasennebenhöhlen pos., „mühelos gefunden".
125	7.*	Schottmüller, Hamburg	Sammlung der Einwände gegen I.B.
126	7.*	Mahlo, Hamburg	Unter Neisser-Frankfurt 100 Fälle neg. später massenhaft pos. Ab Ende Juli immer häufiger.
127	10.*	Friedberger, Greifswald	Jetzt reichliches Vorkommen von I.B.
128	16.*	Edelmann, Wien	U. a. auch I.B. gefunden. Negative Filtratimpfungen (Affen und Meerschweinchen) unter Landsteiner. Mit der Zeit zunehmende Häufigkeit der pos. Befunde.
129	17.	Fürst, Südthrazien	1 von 50 Untersuchungen pos.
130	18.*	Bonhoff, Marburg	38 von 100 Sputis, 3 von 15 Lungen. Kritik an I.B.
131	19.	Korbsch, Feld	Anfangs 33,7%, dann 71%, dann 100% pos. Anfangs häufig Mischinfektionen mit Diphtherie.
132	21.*	Reiche, Hamburg	Gegen die Theorie der Durchimmunisierung der Bevölkerung
133	21.*	Zeißler, Hamburg	Ende Juni bis Anfang Dez. 2 von 20 Rachenabstr.; Sputa (nicht frisch) 44%, Pleuren 9% pos.
134	21.*	Lorey, Hamburg	1 Pseudoinfluenza aus Pleura.
135	21.*	Pasche, Hamburg	Für I.B. gegen filtrierbares Virus.
136	21.*	Embden, Hamburg	„Kameradschaftsgrippe".
137	21.*	Rumpel, Grätz, Hamburg	Zusammenstellung der Einwände gegen I.B.
138	23.	Hoffmann und Keuper, Düsseldorf	17 von 471 Sputis pos.
139	26.	Siegmund, Feld	Einige Sputa mikr. pos. Mehrzahl neg. Innere Organe pos.
140	31.*	Busse, Zürich	Meningitis durch I.B.; gelegentlich I.B. pos., aber nicht Erreger.
141	31.	Herzog, Leipzig	Seit Oktober 38 von 82 Sektionen. Schnitt zuweilen massenhaft I.B. Kontrollen zum Teil reichlich pos.
	Febr.		
142	2.	Friedberger und Konitzer, Greifswald	Seit Dezember pos. Befunde. Sammlung der Einwände gegen I.B.
143	6.*	Sobernheim, Bern	Juli bis August 14,6%, Oktober bis November 65,9 % kult. pos. Schwierigkeiten des Nachweises; mehrere Fälle mikr. pos., kult. neg.
144	9.	Vestlinger, Budapest	I.B. bei Konjunktivitis gefunden.
145	13.	Bossert und Leichtentritt, Breslau	Sputa häufig positiv, große Bazillenmengen, zuweilen Reinkultur.
146	13.	Meyer, Berlin	10 Sputa pos., Blut steril.
147	14.	Rosenbaum, Breslau	Grippepneumonien in einzelnen Zimmern gehäuft.
148	15.	Sahli, Bern	Tröpfcheninfektion, Schutzmaske, Immunisierung.
149	20.*	Scheidemandel, Nürnberg	Nürnberger Gesamtmaterial; I.B. nur ganz vereinzelt. pos.

Nr.	Zeit	Autor und Ort	Befund
150	Febr. 20.*	Wegelin, Bern	7 von 33 Lungenschnitten pos.
151	23.	Adler und Kaznelson, Prag	14 von 54 Sektionen pos., 20 Sputa pos., viele andere neg.
152	März 27.	Kronberger, Davos	Kleinste Körperchen im Blut (mikr.).
153	28.	Olsen, Hamburg	166 von 220 Lungen kult. pos. Gegen filtrierbares Virus. Nährboden!
154	3.	Pöpelmann, Coesfeld	Wie Nr. 152.
155	9.	Deussing, Hamburg	I.B. Sekundärerreger.
156	14.	Nürnberger, München	I.B. nicht als gefunden erwähnt.
157	April 25.	K. Mayer, Konstantinopel	35 Rachen, 64 Sputa neg.
158	Mai 8.*	Stich, Göttingen	50 Empyeme I.B. neg.
159	8.*	v. Hippel, Göttingen	Ätiologie ungeklärt.
160	12.*	Prym, Bugarmee	Nebenhöhle zuweilen pos.
161	Juni 12.	Fejes, Budapest	I.B. selten im Sputum; Kultur kleinster Körperchen aus filtriertem Sputum. Positive Affenimpfung mit Filtrat.
162	16.	Schemensky, Livland	Gelegentlich I.B. pos., ab Mitte Sept. häufiger.
163	Juli 22.	Hildebrandt, Flandern	Anscheinend häufig I.B. pos.
164	27.	Gröger, Teschen	I.B. immer pos.
165	Aug. 5*.	Wandel und Reinhardt, Leipzig	I.B. pos.
166	1920 Jan. 27.*	Reinhardt, Leipzig	I.B. pos.
167	Febr. 1.	Coronini und Priesel, Wien	Pestähnliche Bazillen.
168	14.	Edelmann, Wien	Sputa und Sektionen u. a. auch I.B. pos., Kritik.
169	20.*	Gödel, Steiermark	Gegen I.B.
170	März 7.	Arneth, Münster	Gegen Endotoxintheorie.
171	11.*	Stahr, Danzig	Fast alle Sektionen I.B. pos.
172	20.*	Jaksch-Wartenhorst, Prag	1918: Sputa neg. Sektionen 35,7% pos.; 1918 keine, 1919 viel Hausinfektionen. Tröpfcheninfektion! I.B. nicht alleiniger Erreger.
173	April 8.*	Kirschner, Wien	1918 42% der Sektionen pos., neuestens alle neg.
174	24.	Raffelt, Wien	Übersicht.
175	Juni 7.*	Seligmann und Wolff, Berlin	I.B. gefunden bei Tbc. 19,3%, bei Grippe 31,9%, Masern 38,6%, Keuchhusten 45,5%, Gesunde neg. Serolog. Gruppierung nicht möglich.
176	Juli 10.*	Klieneberger, Zittau	Gegen I.B.
177	15.	Löwenhardt, Breslau	Statistik der pos. I.B.-Nachweise. I.B. sehr häufig pos.
178	Aug. 26.	Neufeld, Berlin	Schwierigkeiten des Nachweises; häufiges Vorkommen der I.B.; I.B. wahrscheinlich Erreger. Gegen filtrierbares Virus.

Nr.	Zeit	Autor und Ort	Befund
179	Aug. 27.	Hildebrandt, Freiburg	I.B.-Träger; chronische Grippe.
180	Sept. 9.	Messerschmidt, Hannover	14 von 98 Tbc. I.B. pos.; Bronchitiker neg. Nährboden!
181	Okt. 7.	Schiffer und Spengler, Wien	Sophienspital, Wien; in keinem Sputum I.B. nachweisbar.
182	21.	Reiche, Hamburg	Wenig Hausinfektionen; Blut, Pleura, Meningen I.B. neg.
183	21.	P. Schmidt, Halle	Filtrationsversuche.

118, 126, 128, 162), daß sie die Zunahme der positiven Befunde mit der Zeit beobachtet haben. Löwenfeld (109) berichtet übrigens von einem Nachlassen der Befunde zwischen Juli und Oktober; Olsen (153) beobachtete keine Schwankung; Kirschner (173) hatte nach viel positiven Resultaten im Jahre 1918 in neuester Zeit bei Grippe wieder negative Ergebnisse; auch Löwenhardt (177) berichtet von einer Abnahme der Bazillenbefunde nach Epidemieende. Eine Deutung dieser zeitlichen Verteilung soll nicht versucht werden. Auffällig ist, daß die Tabelle mit einer längeren Reihe negativer Meldungen beginnt.

Die Angaben über die Reichlichkeit des Bazillenvorkommens während der Epidemie schwanken sehr. Manche Autoren finden mühelos massenhafte I.B. im Ausstrichpräparat, andere haben erfolglos den ganzen Bronchialbaum und Hunderte von Sputis abgesucht, und zwar sowohl mikroskopisch als kulturell. Zur Erklärung dieser auffälligen Tatsache werden verschiedene Gründe angeführt, welche das Fehlen von I.B. vortäuschen können sollen. Als solche werden genannt: 1. das Krankheitsstadium; nach Oeller können an späteren Krankheitstagen die I.B. vermißt werden; Olsen (153) findet besonders die frischen Fälle geeignet, doch lassen sich nach seiner Angabe I.B. auch späterhin in der Leiche nachweisen. Dietrich (42) findet sie auf der Höhe der Erkrankung in den Alveolen, Fromme (115) hält den geeigneten Zeitpunkt im Krankheitsstadium für erforderlich. Vielfach wird die Vermutung geäußert, daß die I.B. in den späteren Krankheitsstadien durch Sekundärerreger verdrängt werden. Andererseits aber haben verschiedene Autoren mit negativen Befunden (142, 125, 184) teils ganz frische, teils verschieden alte Fälle untersucht; es kann somit nicht am Alter der Erkrankung liegen, wenn bei diesen Autoren der Bazillennachweis negativ wurde. Im übrigen sind mehrfach Bazillen auch lang nach Ablauf der Erkrankung gefunden worden, z. B. von Leichtentritt (117), (vgl. auch Hildebrandt (179). — 2. Perakute Fälle können nach Pfeiffer (85) negativ sein (ähnlich Hübschmann (26); indessen haben die Autoren mit negativen Befunden gewiß nicht ausschließlich perakute Fälle untersucht. — 3. Sektionsmaterial soll ungeeignet zur Untersuchung sein (Hübschmann (26) gegen Mandelbaum und Oberndorfer), auch v. Wießner (67) fand in Sputis häufiger I.B. als in Leichen; aber ein Blick auf die Tabelle zeigt,

wie außerordentlich häufig in Sektionsmaterial I.B. nachgewiesen werden konnte (Zahlen bei Prein [186]). Gegen die Bakteriolyse haben Arneth (170) und Prein (186) sich gewendet. — 4. Die Frische der Sputa ist wohl eher ein wesentliches Erfordernis. Hübschmann (26) betont die Wichtigkeit der Untersuchung in frischem Zustand, Fromme (115) beobachtet, daß mit I.B. versetztes Sputum nach 28stündigem Stehen den kulturellen Nachweis der I.B. nicht mehr gestattete, infolge Überwucherung anderer Bakterien (S. 1918 oben), anscheinend gelang schon nach 4 Stunden der Nachweis nicht mehr (S. 1917 unten); auch die von Grätz (184, S. 438) mitgeteilte Beobachtung spricht im Sinne eines raschen Absterbens der I.B. im Sputum[1]). Leider ist von diesen Autoren nicht angegeben, ob die I.B. sich aufgelöst haben, d. h. auch mikroskopisch nicht mehr nachweisbar waren. Zeißler (133) dagegen erhielt mit Sputumproben, die bis zu 3 Tagen unterwegs gewesen waren, noch 44% kulturell positive Befunde. Andererseits betonen die Autoren mit negativen Befunden mit Nachdruck, daß sie ihr Material in ganz frischem Zustand, unter günstigsten Bedingungen, untersucht haben. — 5. Die Lokalisation der I.B. in den höheren oder tieferen Luftwegen wird von Mahlo (126) und Fromme (115) besprochen, Ghon (59) gibt an, daß man umso häufiger I.B. findet, je eingehender man untersucht; aber sowohl Mandelbaum (5) wie Grätz (184, 88) geben an, ihr Material auf das sorgfältigste abgesucht zu haben, und Friedberger (1) entnahm mittels Bronchoskop Untersuchungsmaterial beim Lebenden aus der Tiefe — sämtlich mit negativem Ergebnis. — Auf die mangelnde Übereinstimmung in den Vorschlägen, welche Arten von Sputum (eitrig, schleimig) am geeignetsten seien, hat Prein (186) hingewiesen.

Es ergibt sich somit, daß die hier angeführten Punkte wohl gelegentlich ein negatives Resultat vortäuschen mögen, daß sie aber nicht daran schuld sein können, wenn manche Autoren überhaupt keine oder nur vereinzelte I.B. fanden.

Vielfach erörtert ist die Frage, wie weit die Beschaffenheit des Nährbodens zu Fehlresultaten geführt hat; Olsen (153) erhebt die Forderung, daß die Nährboden durch Beimpfen mit sicheren I.B.-Stämmen kontrolliert werden müssen. Diese Forderung wurde von Friedberger (142, bac. hämoglobinophilus canis), Schottmüller (125)[2]) und Prein (186) erfüllt, aber auch auf ihren, sicher für das Wachstum der I.B. geeigneten Nährböden konnten I.B. nicht häufiger nachgewiesen werden. Schottmüller (125) beobachtete, daß bei Patienten, in deren Sputum einmal I.B. gefunden worden waren, auch bei den folgenden Untersuchungen I.B. wuchsen; der Nährboden war also geeignet; aber die Mehrzahl der anderen Untersuchungen blieb negativ. Hier mag die Tatsache erwähnt werden, daß Pribram (77) von 4 Krankenhäusern Material erhielt, in dem zuweilen mikroskopisch verdächtige Stäbchen sich fanden; aber die

1) Vgl. hiezu die von Scheller u. Kolle-Wassermann, Bd. V, S. 1274 mitgeteilten Versuche von Ricciardi (IB blieben in Sputum bei hoher Zimmertemperatur 6 bis 8 Tage, bei 37° 3 bis 5 Tage am Leben).

2) Über die Brauchbarkeit des ungekochten Blutagars siehe Messerschmidt (185).

Kulturen gelangen nur mit Material aus einem bestimmten Krankenhaus. Alles in allem wird man wohl Grätz recht geben müssen, wenn er sagt, Voraussetzung für die erfolgreiche Züchtung sei eben, daß die I.B. auch wirklich im Untersuchungsmaterial vorhanden seien.

Wenn die Kultur mißlingt, so müßte immerhin der mikroskopische Nachweis möglich sein; es ist daher nötig, zu vergleichen, ob kulturell und mikroskopisch ungefähr übereinstimmende Befunde erhoben wurden. Leider liegen wenig Zahlen vor. Uhlenhuth (34) findet von 51 Proben mikroskopisch verdächtig 17, kulturell positiv 13. Leichtentritt (117) von 217 Sputis 94 mikroskopisch, 112 kulturell positiv (also etwa 84% der kulturell positiven auch mikroskopisch positiv); Grätz (184) erhält mit beiden Methoden etwa gleiche Werte; auch die Differenzen beider Verfahren bei Messerschmidt (185) sind nicht so sehr groß. Friedberger (1) und Löwenfeld (102) scheinen kulturell etwas bessere Resultate erhalten zu haben; entgegengesetzt Pribram (77), Trawinski und Cori (99), Sobernheim (143). Man muß sich klar machen, daß es sich nicht darum handelt, zu konstatieren, ob der kulturelle oder mikroskopische Nachweis um einige wenige Prozente besser ist, sondern darum, ob der eine dem anderen so bedeutend überlegen ist, daß er das ganze Bild verändern kann. Das ist offenbar nicht der Fall, und damit fallen die Einwände, die sich mit der Eignung des Nährbodens beschäftigen. Olsen (123) findet bei 76% der Fälle I.B., wieviel Prozent davon mikroskopisch positiv, ist nicht angegeben. Wendet man das von Leichtentritt (117) gefundene Verhältnis des mikroskopischen Nachweises zum kulturellen (84%) auf die Beobachtungen von Olsen an — dazu ist man wohl berechtigt, denn die Breslauer Beobachtungen sind gewiß als maßgebend zu betrachten, und bei einer klinisch so einheitlichen Krankheit muß auch einheitliches Verhalten des wirklichen Erregers angenommen werden — so wären rund 60% aller Fälle auch mikroskopisch positiv gewesen. Grätz (111), gleichfalls in Hamburg, erhielt nur verschwindend wenig positive Resultate. Hätte sein Material ebenso reichlich I.B. enthalten wie das von Olsen, und wäre nur sein Nährboden ungeeignet gewesen, so müßte sein Ergebnis lauten: „mikroskopisch in mehr als der Hälfte verdächtige Stäbchen, in der Kultur kein Wachstum". In Wirklichkeit aber stimmten mikroskopischer und kultureller Befund annähernd überein. — Auch die Hustenplatte scheint keine wesentlichen Veränderungen des Resultats zu ergeben; Löwenfeld (102) fand im Juli bei gewöhnlicher Technik 5 von 38 Sputumproben positiv, bei Hustenplatten 2 von 19 (also 13 bzw. 10,6%), im Oktober bei gewöhnlicher Technik 15 von 47 Sputumproben, bei Hustenplatten 8 von 20 positiv (also 32 bzw. 40%); der Unterschied ist nicht der Rede wert.

Gelegentlich findet sich die Vermutung, der Nachweis der I.B. sei deshalb so häufig mißlungen, weil er den jüngeren Bakteriologen nicht genügend vertraut sei (34). Statt der Erörterung, wem man die Befähigung, I.B. zu diagnostizieren, zuerkennen soll, darf darauf verwiesen werden, daß einige eben der Autoren, die 1918 negative Befunde meldeten, entweder früher I.B. gezüchtet (Mandelbaum, Kruse, Friedberger, Paltauf [107]), oder gegen das Ende dieser Epidemie diese gefunden

haben (Friedberger, Kruse, Vagedes, Mahlo), oder durch den gelegentlichen, wenn auch nur spärlichen Bazillennachweis den Beweis erbracht haben, daß ihre Technik geeignet war.

Andererseits muß die Frage aufgeworfen werden, ob unter den zahlreichen positiven Befunden nicht auch manche von Pseudo-I.B. enthalten sind. Dergleichen berichten Rimpau (7), Uhlenhuth (34), Alexander (64) (in 60 von Hundert ein mikrosk. I.B.-ähnliches, aber bewegliches und nicht hämoglobinophiles Stäbchen), E. Fränkel (116) (bei der ersten Welle ein mikroskopisches I.B.-ähnliches, aber nicht hämoglobinophiles Stäbchen), Neufeld und Papamarku (120), Lorey (134).

Sehr auffällige Widersprüche finden sich in den Angaben über den mikroskopischen Nachweis der I.B. Die Breslauer Schule und manche andere Autoren berichten über ungeheure Mengen von I.B., die zuweilen in Reinkultur vorhanden sind; Leichtentritt (117) beispielsweise findet 94 von 217 Sputis mikroskopisch positiv, also rund 43%; es müßte nach solchen Befunden sehr oft möglich sein, mit dem Mikroskop allein die Diagnose zu stellen, wenn man auf die Abgrenzung der Pseudo-I.B. vorerst verzichtet. Andere Autoren dagegen haben I.B. mikroskopisch nicht oder nur ganz selten nachweisen können. Sollen wir annehmen, daß auch bei ihnen die I.B. in rund 43%, und zwar häufig in ungeheuren Mengen, zuweilen in Reinkultur vorhanden gewesen, und lediglich übersehen worden sind?

Übersichten über die Einwendungen, welche sonst noch gegen die Bedeutung der I.B. erhoben werden können, siehe bei den Münchner Autoren (3 bis 9), bei Kruse (27), Grätz (111), Schottmüller (125), Friedberger (142), ferner Grätz (184), Prein (186), Prell (187). Erwiderungen der Pfeifferschen Schule siehe Pfeiffer (85), Leichtentritt (117), Bossert und Leichtentritt (144), Löwenhardt (177). Das Hauptargument der Autoren, welche für die Ätiologie des I.B. eintreten, besteht darin, daß sie den I.B. häufig bis regelmäßig fanden. Angesichts der unleugbaren Tatsache, daß viele Andere ihn nicht gefunden haben, ohne daß man technische Fehler anschuldigen könnte, ist dieser Grund nicht beweiskräftig.

Die Übersicht über das bisher Gesagte ergibt, daß manche Autoren den I.B. mühelos in großen Mengen fanden, andere dagegen trotz günstigster Bedingungen und trotz Wahrung aller Kautelen ihn nicht nachweisen konnten, so daß die Annahme sich aufdrängt, er sei bei diesen letzteren tatsächlich nicht vorhanden gewesen. Diese Gegenüberstellung berechtigt dazu, eine Vermutung, die ich am 6. November 1918 (68, Berichte des Münchner ärztlichen Vereins 1918, S. 73) aussprach, an dem nunmehr vorliegenden Material zu prüfen. Ich äußerte damals die Ansicht, daß der I.B., der ja gewiß mit der Influenza in irgendwelchem, wenn auch nicht ätiologischem Zusammenhang steht, bei der vorigen Pandemie über ganz Deutschland verbreitet worden sei, und daß von dieser Überflutung her noch einzelne Gegenden zurückgeblieben seien, in denen der I.B. auch in normalen Zeiten vielfach häufig zu finden gewesen wäre; die Epidemie, anläßlich derer überall nach I.B. gesucht wurde, hätte dann diese Gegenden als I.B.-positiv zur Kenntnis gebracht. Örtliche Abgrenzungen des

Bazillenvorkommens scheinen nicht unmöglich zu sein; ich wies damals auf örtlich verschiedene Häufigkeit der Paratyphus A- und B-Stämme hin.

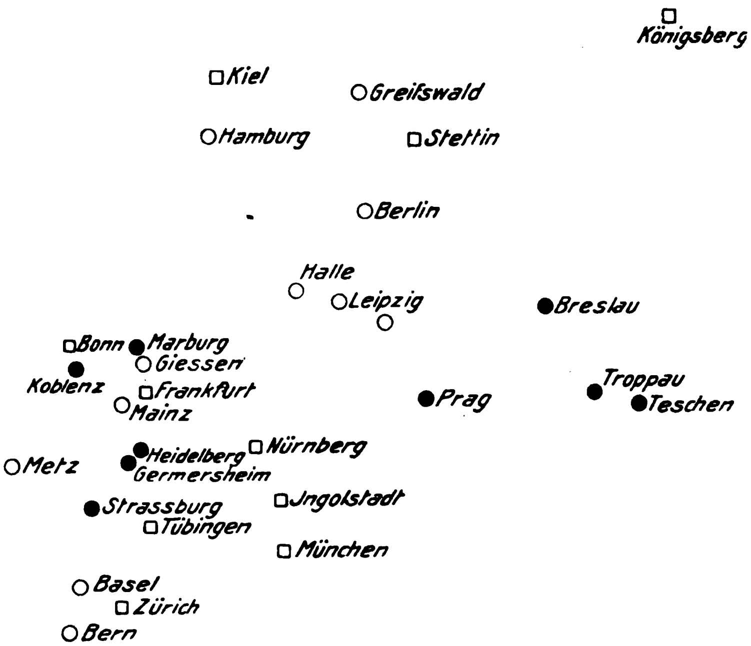
Die inzwischen erfolgten Veröffentlichungen bis einschließlich September lauten positiv aus Breslau (12), Straßburg (15, 34, 35), Hamburg (38), Marburg (44), Koblenz (55), Heidelberg (18); auch Teschen (164); vereinzelt positive Befunde melden Leipzig (26), Halle (33, 21), Metz (45), Dresden (46), Berlin (19, 109, 23), auch Greifswald (1, 24). Negativ sind München (3 bis 9), Berlin (14, 20), Stettin (43), Frankfurt (23, 50, 51, 58), Bonn (47), Königsberg (48), Ingoldstadt (52), wohl auch Nürnberg (149) und Tübingen (112).

Zeichnet man mit diesen Angaben eine Karte, so bemerkt man zwei getrennte Herde stark positiver Befunde; der eine westlich umfaßt den Bezirk Straßburg—Heidelberg—Koblenz—Marburg, der östliche den Bezirk Breslau—Teschen. Der westliche enthält auch Orte geringerer Häufigkeit, nämlich Metz, Mainz, Gießen. Beide Herde hängen durch eine Zone geringerer Häufigkeit — Dresden, Leipzig, Halle — zusammen. Nur Hamburg (das mit Rücksicht auf die bald folgenden negativen Befunde [57, 111] als schwach positiv bezeichnet wurde) steht isoliert, eine Stadt, bei der Einschleppung leicht annehmbar ist. Auch Berlin wird den ursprünglich negativen Städten (vgl. 66) zuzuzählen sein; eine Stadt mit solchem Verkehr wird auf die Dauer nicht freibleiben können. Negativ ist Frankfurt, das Gebiet von Bayern und Schwaben, sowie der Nordosten Deutschlands. Im übrigen ist es wohl berechtigt, in dieser Karte auch die Orte, welche späterhin negative Befunde melden, einzutragen; denn bisher ist (nur mit zwei Ausnahmen [109 und 173]) nicht gemeldet, daß ein anfangs positiver Ort später negativ geworden sei, sondern nur das Gegenteil. Im Oktober erhält der östliche Herd eine Erweiterung durch die Meldung aus Prag (59), dem sich übrigens 14 Tage später Troppau (89), mit einem sehr hohen Prozentsatz positiver Befunde anschließt, zugleich kommen aus Wien (55, 67) entschiedene Positivberichte. Im westlichen Herd erscheint Germersheim (60) und, wie zuvor, schwach positiv, Gießen (61); Berlin bringt in diesem Monat seine ersten deutlich positiven Befunde (66, 73, 74, 75), auch Bern (143). In der folgenden Zeit werden ähnlich Wien und Berlin, noch andere Orte positiv, z. B. Greifswald (127), Leipzig (118), und es bleiben schließlich nur fast die Orte als negativ übrig, von denen keine späteren Berichte vorliegen.

In den I.B.-positiven Orten finden sich I.B. auch bei Grippekranken zuweilen häufig, in Breslau z. B. in höherem Prozentsarz als anderorts bei Grippekranken (siehe S. 267).

Diese Karte darf nur mit Kritik gedeutet werden. Die Orte, von denen Befunde vorliegen, sind unregelmäßig und teilweise (Nordosten) sehr dünn verstreut; die häufig fehlenden Angaben über die Zahl der Untersuchungen, insbesondere die der positiven, bewirken eine gewisse Unsicherheit. Besonders schwierig ist die Beurteilung der Orte mit vereinzeltem Bazillenbefund; es kann sein, daß hier noch von der vorigen Pandemie her Bazillen vorhanden waren, es ist aber auch möglich, daß sie eben im Begriff waren, eingeschleppt zu werden, umsomehr, als sie ja unzweifelhaft auch bei Nichtgrippekranken vorkommen können (vgl. 66, 85, 117,

175). Betreffs der Orte mit negativen Befunden andererseits ist anzunehmen, daß negative Untersuchungen, zumal bei Epidemiebeginn, nicht veröffentlicht worden sind. Die Annahme der beiden Herde häufigen Bazillenvorkommens bedarf daher eines größeren Zahlenmaterials.



● stark positiv. ○ schwach positiv. □ negativ.

Es wäre zur Klarstellung dieser wichtigen Frage in hohem Maße dankenswert, wenn diejenigen Autoren, welche über nichtpubliziertes, wissenschaftlich verwertbares Material verfügen (oder auch die, welche mit meiner obigen Bewertung ihrer Befunde nicht einverstanden sind) ihre Befunde mir einsenden wollten, womöglich unter Angabe von Zeit und Prozentsatz, zwecks ev. späterer Richtigstellung; wichtig wären ferner Angaben über dauerndes Freibleiben von Ortschaften.

Auf alle Fälle wird man zugeben müssen, daß die Reichlichkeit, mit der die I.B. aufgetreten sind, in einem Maße veränderlich ist, das bei anderen Infektionskrankheiten nicht vorkommt; daß soviele Autoren die ungeheuren Bazillenmengen, welche die Pfeiffersche Schule beschreibt, übersehen haben sollten, ist einfach nicht möglich.

Neben dieser geographischen Verteilung kommt anscheinend noch eine räumliche Verteilung im kleineren Maßstab vor. G. B. Gruber und Schädel (41) berichten von ihren Untersuchungen, die im übrigen nicht für die Ätiologie des I.B. sprechen, daß sie von einer Krankenstube 5 Sputa erhielten, in denen sich I.B. in Reinkultur befanden. Ähnlich sind möglicherweise die Gegensätze der Bazillenbefunde in Hamburg (mitgeteilt in den Sitzungen des örtlichen Vereins Hamburg vom 26. November, 10. Dezember 1918, 7. und 21. Januar 1919) zu deuten. Wir

kennen ein scheinbares Befallensein von Häusern bei Infektionskrankheiten, die durch Bazillenträger, die in dem Hause wohnen, verbreitet werden. Nichts steht im Wege, anzunehmen, daß in den betreffenden Häusern sich I.B.-Träger befanden, welche die Patienten mit I.B., nicht mit Influenza, infizierten, und für die weitere Verbreitung der Bazillen sorgt dann der Husten der Grippekranken. Ähnliche Anschauungen finden sich bei Grätz (MMW. 18, S. 11, Berl. kl. W. 19, S. 46) und bei Prell [187] „Zweigepidemien"). Die Anerkennung des lokalen Vorkommens der I.B. im Gegensatz zur pandemischen Verbreitung der Grippe schließt die ätiologische Bedeutung der Pfeifferbazillen aus.

Von örtlich gehäuftem, besonders schwerem Auftreten der Grippe, das durch Leerstehenlassen und Reinigung des befallenen Zimmers bekämpft wurde, berichten E. Schwarz (76), E. Frey (93), Rosenbaum (147), Raffelt (174), vgl. auch Embden (136). Bakteriologische Befunde dieser „Sterbenester", „Grippezimmer- und -Häuser" sind nicht angegeben.

Über Krankenhausinfektionen berichten Reiche (182), der im Krankenhaus Barmbeck wenig Infektionen bei Kranken, viel bei Ärzten und Pflegern beobachtete. I.B. werden nicht als gefunden erwähnt; mit Rücksicht auf die sonstigen Publikationen dieses Krankenhauses darf wohl die Abwesenheit der I.B. angenommen werden. Jaksch-Wartenhorst (172) beobachtete 1918 keine Hausinfektionen, negativen Bazillenbefund im klinischen, positiven im Sektionsmaterial; 1919 dagegen viel Hausinfektionen, der bakt. Befund ist nicht erwähnt. Elias (96) berichtet von wenigen Infektionen bei Schwestern.

Überblicken wir das bisher Gesagte, so finden wir, daß zwar viele Autoren den I.B. in einem hohen Prozentsatz der Erkrankungen, kulturell und schon im einfachen Ausstrich, nachweisen konnten, selbst unter ungünstigen Bedingungen, daß aber wieder andere Untersucher, darunter Namen von unzweifelhafter Autorität und mit persönlichen Erfahrungen, hinsichtlich des I.B., unter günstigsten Bedingungen bei kontrollierten Nährböden trotz aller Sorgfalt nicht finden konnten; die gegen die negativen Befunde erhobenen Einwände erweisen sich als nicht stichhaltig. Somit müssen wir schließen, daß es Grippe ohne I.B. geben kann, daß also die 1. Kochsche Forderung für den I.B. nicht erfüllt ist.

Wie verhält es sich mit der zweiten Kochschen Forderung? Kontrolluntersuchungen an Gesunden und Nichtgrippekranken liegen, im Vergleich zu den sonstigen Untersuchungen, nur vereinzelt vor. Uhlenhuth (34) fand in 100 normalen Rachenabstrichen keine I.B.; ebenso Messerschmidt (Straßburg) im Jahr 1918. In Berlin fanden sich seit 1912 nach Neufeld und Papamarku (66) bis zur Epidemie keine I.B.; während der Epidemie jedoch auch bei Tuberkulösen; dieselben Autoren fanden (120) bei 2 von 25 Rachenabstrichen nicht manifest Kranker I.B.; in seiner neuesten Publikation erwähnt Neufeld (178) die Befunde Lewinthals (I.B. gefunden bei Keuchhusten in 29%, bei Masern in 47%). Leipzig meldet ursprünglich negative (79), dann positive (141) Kontrolluntersuchungen; Breslau (117, 177) berichtet über Prozentsätze positiver

Kontrollen, die höher sind als die von anderen Autoren bei Kranken gefundenen. Fränkel (Heidelberg [116]) und Messerschmidt (Hannover [180]) melden gleichfalls positive Befunde, der letzte Autor fand bei 14 von 98 Tuberkulösen I.B., dagegen bei keinem von 34 Bronchitikern. Die jüngste Publikation auf diesem Gebiet dürfte wohl die von E. Seligmann und S. Wolf (175) sein. Diese Autoren fanden I.B. bei Influenzakranken in 31,9%, bei Tuberkulösen in 19,3%, bei Masern in 38,6%, bei Keuchhusten in 45,5%; sie betonen mit Recht, daß es also massenhaft I.B. bei hustenden Kranken gibt, ohne Verbreitung der Influenza, man kann ergänzend hinzusetzen, daß es mindestens zu Epidemiebeginn massenhafte Übertragung von Influenza ohne, oder fast ohne I.B. gegeben hat, was späterhin zu erörtern sein wird. — Berichte über positive Befunde bei Nichtgrippekranken aus Städten, in denen bei Kranken I.B. nicht gefunden wurden, liegen nicht vor. Soweit diese spärlichen Befunde einen Schluß zulassen, findet sich der I.B. an den Orten, welche hohe positive Prozentsätze bei Kranken melden, auch bei Kontrollen häufig (Breslau), was mit der Vermutung einer örtlichen Verbreitung übereinstimmt. Die Zunahme der positiven Befunde bei Kranken mit der Zeit scheint sich bei den Kontrollen zu wiederholen (Leipzig). Literatur über das Vorkommen von I.B. bei Kontrollen siehe 142, vgl. auch Scheller in Kolle-Wassermann II. Aufl., Bd. 5, S. 1261. Manche Autoren, z. B. Neufeld (120) nehmen eine weitgehende Verbreitung der I.B. (Neisser hält ihn für ubiquitär, cit. nach Friedberger [142]) und zur Erklärung der Pandemie eine Virulenzzunahme an.

Zusammenfassend wird von diesen Befunden zu sagen sein, daß die überwiegende Mehrzahl der Kontrolluntersuchungen positive Ergebnisse hatte. Der Prozentsatz der positiven Befunde ist zuweilen höher als bei Grippekranken an gleichen oder an anderen Orten. Man wird somit auch die zweite Kochsche Forderung nicht als erfüllt bezeichnen können.

Hinsichtlich der dritten Kochschen Forderung besteht die Schwierigkeit, daß es anscheinend — und merkwürdigerweise — ein geeignetes Versuchstier nicht gibt. Pfeiffer erhielt beim Affen durch intrapulmonale Injektion Krankheitsbilder, die „eine gewisse, nur geringe Analogie mit leichter Influenza" aufwiesen (Scheller in Kolle-Wassermann Bd. V, S. 1274). Häufig findet sich der Hinweis auf die Beobachtung von Kretz, der beim Arbeiten mit Influenza eine Kultur zerbrach und danach an Influenza erkrankte (nach Leichtentritt [117] berichtet in W. kl. W. 1897). Das ist ein Fall mit anscheinend positivem Ergebnis; wer kann wissen, welches Ergebnis eine Serie von Menschenversuchen ergeben hätte? Mit Recht wird darauf hingewiesen, daß man aus den positiven Selterschen Filtratinhalationen (48) keine Schlüsse ziehen dürfe, weil ihre Zahl zu klein sei (142); ebenso muß man die Beobachtung von Kretz beurteilen (vgl. auch die Kritik der Laboratoriumsinfektion bei Messerschmidt [188]). Affen standen während der Epidemie nicht zur Verfügung; nur in Straßburg wurde ein Affe durch Tröpfcheninfektion (34) mit Sputum und Reinkultur (188) geimpft; ohne Erfolg. Eine Erhöhung der Virulenz, die u. a. Neufeld annimmt, ist mindestens nicht nachweisbar.

Gegenüber diesen beiden Versuchen besteht eine übergroße Anzahl von Beobachtungen über etwas, das als unfreiwillige Menschenimpfung mit Grippematerial bezeichnet werden kann; ich meine den natürlichen Infektionsmodus, ein Problem, das zuerst wohl bei Grätz auftaucht und das ich auf Grund experimenteller und theoretischer Studien über die Entstehung keimhaltiger Tröpfchen weiter ausführen kann. — Ist der I.B. der Erreger, so kommt nur die Tröpfcheninfektion, nicht aber Übertragung etwa durch Stuhl oder Wasser, oder Ungeziefer in Betracht; auch für ein anderes noch unbekanntes Virus besteht vorerst kein Nachweis einer anderen Übertragung als durch Tröpfchen. Fast alle Autoren, die die Ansteckungsfrage erörtern, nehmen Tröpfcheninfektion an (vgl. auch DMW. 20, S. 326), nur wenige erwägen auch andere Möglichkeiten (z. B. Frohmann [91]; Elias [96]; Müller DMW. 20, S. 326; vgl. auch 67, 68). Häufig wird die Kontagiosität als sehr groß (vgl. 104) bezeichnet (dagegen Ganter [25], Neufeld [178]). Dieudonné (10) teilt eine Beobachtung über Infektionen in grippefreier Gegend mit, welche sich beim Ausladen eines Lazarettzuges ereigneten. Bedenkt man, daß das Ausladen doch wohl teils im Freien, teils in Räumen, die durch das Öffnen der Türe gut ventiliert waren, mit relativ kurzer Berührung mit den Kranken erfolgt sein wird, so muß man eine ungewöhnlich starke Verstreuung des Erregers in kleinsten Tröpfchen annehmen.

Verbreitet sich eine Krankheit mit großer Ansteckungskraft durch Tröpfchen, so ist stets der Erreger im Sputum massenhaft vorhanden. Man muß sich klar machen, wie ungeheuer klein die Sputummenge ist, die den Körper in Form flugfähiger Tröpfchen verläßt, und wie ungeheuer klein wiederum der Bruchteil des versprühten Sputums ist, der unter natürlichen Bedingungen eingeatmet wird, und daß von diesem Bruchteil wiederum nur ein Teil bis in empfängliche Regionen vordringt. Infolgedessen besteht eine Beziehung zwischen Keimgehalt und Ansteckungskraft. Das ist der Fall bei Lungenpest, wo die Kontagiosität dem massenhaften Bazillenvorkommen entspricht; es ist ferner der Fall bei Tuberkulose, wo die Flüggesche Schule mit Recht die Notwendigkeit eines reichlichen Bazillengehaltes für die Infektiosität betont; es würde der Fall sein bei denjenigen Grippesputis, deren I.B.-Gehalt den klassischen Schilderungen Pfeiffers entspricht; unmöglich aber können Masseninfektionen durch Tröpfchen bewirkt werden mit Sputum, das den Erreger nicht, oder ganz vereinzelt enthält. Es sei daran erinnert, daß gelegentlich Typhusbazillen in Mundhöhle und Sputum gefunden worden sind (Zahlenangaben siehe Kolle-Hetsch S. 325; neuerdings E. Pulay, MMW. 18, S. 1456), aber die Tröpfcheninfektion mit Sputum ist bei Typhus kein epidemiologischer Faktor, eben weil der Erreger zu selten und zu spärlich im Sputum vorkommt.

Die zahlenmäßige Überlegung ergibt das Gleiche. Ich habe vor kurzem rechnerische und experimentelle Versuche darüber veröffentlicht, wie die scheinbare Flugfähigkeit der Mikroorganismen sich mit der Keimdichte der versprühten Aufschwemmung ändert (Arch. f. Hyg. 89, 262). Die physikalischen Gesetze ergeben, daß die Flugfähigkeit mit dem Quadrat des Tröpfchendurchmessers abnimmt (während der Inhalt natürlich

mit der dritten Potenz des Radius wächst). Bei drei Tröpfchen, deren Durchmesser sich wie 1:2:3 verhalten, werden sich also die Flugfähigkeiten wie 9:4:1 oder wie 1:0,25:0,11 verhalten, dagegen die Volumina und infolgedessen auch die Wahrscheinlichkeit, mit der sie Bazillen enthalten, wie 1:8:27. Wird eine sehr keimreiche Aufschwemmung versprüht, so entfallen Keime auch auf die kleinsten flugfähigen Tröpfchen; bei abnehmender Keimdichte enthalten schließlich fast nur die größeren, rasch zu Boden fallenden Tropfen Bazillen, während die kleinsten, flugfähigen größtenteils leer ausgehen. Die Aufschwemmungen, mit denen man Flugfähigkeitsversuche zu machen pflegt, sind zumeist stark konzentriert, sie enthalten mindestens Hunderte und Tausende von Millionen von Keimen pro ccm, meistens wohl noch viel mehr; das Ausstrichpräparat einer solchen Suspension zeigt in jedem Gesichtsfeld Unmengen von Bazillen; es ist falsch, die Resultate, welche die Versprühung solchen Materials ergibt, unkorrigiert auf die Tröpfcheninfektion durch keimarme Sekrete zu übertragen. Suspensionen größerer Organismen (Hefen, Mycoides) sind naturgemäß bei Verreibung gleicher Volumina keimärmer als die von kleinsten Organismen (Prodigiosus), und schon dieser Umstand täuscht eine Verringerung der Flugfähigkeit vor — und wie würde die „Flugfähigkeit“ sich gestalten bei Versprühung einer Suspension, die so keimarm ist, daß die Bazillen mikroskopisch garnicht nachweisbar sind, nämlich von Grippesputum?

Es ist zu betonen, daß diese Überlegung uns unabhängig macht von der Entscheidung, ob z. B. bei der Münchner Epidemie wirklich gar keine I.B. zugegen waren, oder nur unauffindbar wenig. Ein außerordentlich keimarmes Sekret muß für gewöhnlich für Tröpfcheninfektion ungefährlich sein, außer man läßt sich während der Einatmung in den geöffneten Mund husten.

Dieser Gedankengang darf nicht damit verwechselt werden, daß der Tierkörper manche Bakterienarten schärfer nachweist als Mikroskop und Kultur. Niemand wird auf die Idee kommen, wenn es sich um den Nachweis von Tbc. durch Tierversuch handelt, ein Meerschweinchen von dem Tbc.-verdächtigen, aber mikroskopisch bazillenfreien Kranken einige Male anhusten zu lassen, sondern man injiziert das Sputum, und zwar in Mengen, die tausend- bis millionenfach größer sind als die, welche eingeatmet werden können. Auf dieser Möglichkeit, große Mengen zur Untersuchung zu verwenden, beruht ein großer Teil der Überlegenheit des Nachweises durch Impfung (und auch durch Kultur) über den mikroskopischen Nachweis, der stets mit sehr kleinen Mengen arbeitet.

Man kann versuchen, einzuwenden, daß dort, wo Grippeübertragung ohne I.B. gemeldet wird, die Ansteckung in den ersten Stunden der Krankheit eines anderen erfolgt sei, und daß die Bazillen bis zur Einlieferung ins Krankenhaus bereits verschwunden seien; es wird ja angegeben, daß die I.B. im Verlauf der Erkrankung verschwinden können (s. oben). Aber man kann doch nicht im Ernst glauben wollen, daß ein boshafter Zufall etwa in München, wo vier Stationen (K. bakt. Untersuchungsanstalt [7], Krankenhaus Schwabing [Klinik und Prosektur 3, 4, 5], II. medizinische Klinik [9], K. militärärzt. Akademie [8, 39]) übereinstimmend negative

Befunde melden, den Untersuchern lauter solche Fälle in die Hand gespielt haben soll, bei denen die I.B. bereits verschwunden waren! Man kann es umso weniger, als das Verschwinden der I.B. durchaus nicht allgemein beobachtet worden ist; neben vielen anderen hat die doch gewiß kompetente Pfeiffersche Schule im Gegenteil I.B. sowohl im Sektionsmaterial, als auch nach der Genesung nachgewiesen.

Man kann weiterhin die Annahme konstruieren, daß sich in München hustende Bazillenträger befunden hätten, deren Sputum nicht zur Untersuchung kam. Man müßte dann annehmen, daß die Erkrankten — mit negativem I.B.-Befund — die Seuche nicht weiterverbreiten, daß also jeder Kranke von einem Bazillenträger angesteckt worden sei, eine Hypothese, die keiner Widerlegung bedarf. Als Gegenstück ist zu erwähnen, daß Seligmann und Wolff (175) reichliche I.B. ohne Verbreitung der Grippe fanden.

Und so ergibt sich der Schluß: Wenn die Übertragung der Grippe durch Tröpfchen erfolgte — und das ist anzunehmen — dann kann die große Ansteckungskraft nur dadurch erklärt werden, daß der wirkliche Erreger massenhaft im Sputum vorhanden war; jedes Gesichtsfeld im Ausstrich hätte ihn zeigen müssen; da er nicht gesehen worden ist, muß es sich um ein Virus handeln, das mit den gewöhnlichen Methoden nicht darstellbar ist (Ber. d. ärztl. Vereins München 1918, S. 73).

Bei solchen mit gewöhnlichen Methoden nicht darstellbaren Erregern liegt es nahe, zuerst an ungewöhnliche Kleinheit zu denken, welche den Nachweis erschwert. Kleinste Organismen sind leichter im Stand, durch Hartfilter durchzuwandern, obwohl Filtrierbarkeit die Sichtbarkeit nicht immer ausschließt. Die Zahl der Autoren, die ein „filtrierbares", „invisibles", „ultramikroskopisches" Virus vermuten, ist so groß, namentlich bei Epidemiebeginn, daß ihre Aufführung in die Tabelle 32ff. nicht aufgenommen wurde. Auch experimentell wurde die Frage von einigen Untersuchern geprüft.

Friedberger (1, 24, 142) berichtet von Menschen- und Meerschweinchenimpfungen mit filtriertem Grippematerial mit negativem Ergebnis, Kruse (27) über negative Menschenversuche, Selter (48) erzielte 2 positive Resultate und versuchte einen Impfstoff der filtrierbaren Erreger herzustellen (81). Weiterhin berichtete ich (83, 87) über die Züchtung kleinster Körperchen aus dem Blut von Ratten, die mit Grippesputum geimpft waren, sowie aus Blut und Lungensaft von Grippekranken; Kontrollen blieben unbewachsen. Leschke (92, 121) wies ähnliche Gebilde mikroskopisch und kulturell nach und erhielt mit filtriertem Material neben negativen auch positive Resultate im Menschenversuch. Auch Binder und Prell (112) konnten kleinste Gebilde in Grippematerial mikroskopisch und kulturell beobachten. Edelmann (118) dagegen erhielt an Meerschweinchen und Affen nur negative Impfresultate: Kronberger (152) beobachtete kleine Körperchen im Blut, hält indessen die in den Kulturen auftretenden Gebilde für Zellgranula; Pöpelmann (154) hatte bei der Blutuntersuchung ähnliche Befunde wie Kronberger. Fejes (161) erzielte durch Einspritzung filtrierter Grippesputa positive Impferfolge bei Affen, und zwar in Form einer mehrere Tage inkubieren-

den, tödlich verlaufenden Krankheit; es ist sehr zu bedauern, daß über den bakt. Sektionsbefund nichts mitgeteilt wird. Die Streptokokken nach P. Schmidt (183) hätte Fejes bei seiner Kulturtechnik (Aseitesbouillon) wohl finden müssen, ebenso Angerer (Züchtung in Serumtraubenzuckerbouillon). Wohl die umfangreichsten und am meisten durch Kontrollen gesicherten Versuche über die Wirkung filtrierten Grippematerials hat P. Schmidt (183) angestellt. In einer Reihe von Fällen konnte durch Filtratimpfung Grippe bewirkt werden; mehrfach fanden sich in dem sonst sterilen Filtrat Streptokokken, die nur durch Kultur in Eierbouillon nachgewiesen werden konnten. Schmidt kommt zu dem Ergebnis, man könne für die Filtratimpfungen „mit hoher Wahrscheinlichkeit annehmen, daß die Erreger das Berkefeld-Filter de facto passieren, wenngleich diese Impferfolge für die Annahme eines unsichtbaren Virus nicht verwendbar seien". I.B. waren bei den durch Filtratimpfung erzielten Fällen nicht nachweisbar.

Auch ausländische Autoren haben positive Filtratimpfungen zu verzeichnen, z. B. Nicolle und Lebailly (Ann. Inst. Past. 1919, S. 395, ref. c. f. Bakt., Ref. 70, S. 372); Gibson, Bowman, Connor (Brit. med. Journ. 3024 ref. B. kl. W. 19, 397). (Auslösung einer 6 bis 7 Tage inkubierenden Erkrankung beim Affen durch Einimpfen von Sputumfiltrat in Nase und Augen); Gibson, Graeme, Bowman, Connor (Brit. med. Journ. 1919, 22, S. 331, ref. c. f. Bakt. Ref. 69, S. 310, Züchtung eines kleinen kokkenähnlichen Organismus aus Filtrat, der im Tierversuch influenzaähnliche Erkrankungen bewirkt). Olitsky und Gates (Journ. of. Am. ass. 1920, Nr. 22, ref. MK. 20. 862) fanden ein filtrables, glyzerinfestes, durch 15 Kaninchenpassagen fortzüchtbares Virus, das im Tierkörper in Form kleinster Körperchen erscheint. Einige Japaner konnten durch filtriertes und unfiltriertes Sputum beim Menschen Grippe auslösen (zit. nach Neufeld [178]).

Stellt man sich auf den von Hübschmann und Olsen, auch von Schottmüller vertretenen Standpunkt, daß positive Ergebnisse mehr Beweiskraft haben als negative, so müßte man die Filtrierbarkeit des Grippevirus als bewiesen ansehen. Es scheint mir geboten, die Ursachen für die auffälligen Differenzen in den Befunden zu untersuchen. Daß die Filtration durch Hartfilter ein Versuch von beklagenswerter Ungenauigkeit ist, wird in der Literatur allenthalben betont, und so finden wir auch bei manchen anderen Krankheiten Unstimmigkeiten in den Angaben über die Filtrierbarkeit ihres Erregers. Von den Ursachen, welche Fehlresultate ergeben können und welche hauptsächlich von Löffler erörtert worden sind, scheinen mir folgende in Betracht zu kommen: Mit der Filtration ist eine erhebliche und unregelmäßige Verdünnung der Keime verbunden, da auch die filtrierbaren Erreger zu einem mehr oder weniger großen Bruchteil im Filter stecken bleiben; ist das Virus schwach virulent oder das Versuchstier wenig empfänglich, so bleibt die Infektion infolge der zu geringen Dosis aus oder wird so leicht, daß der Nachweis mißlingt. So habe ich beobachtet, daß ein und dasselbe Material durch eine enge Kerze filtriert, kein Wachstum der kleinsten Körperchen ergab, bei der Filtration durch rasch filtrierende Kerzen dagegen ein positives Kultur-

ergebnis hatte (was übrigens entschieden gegen die Deutung der fraglichen Gebilde als unbelebten Niederschlag spricht!). Die gleiche Beobachtung macht Leschke (121). Auch der Tierversuch würde demgemäß wohl positiv oder negativ ausfallen. Weiterhin weist Löffler auf die Möglichkeit des Vorkommens filtrierbarer und nicht filtrierbarer Entwicklungsformen bei ein und demselben Erreger hin. Ferner ist der Infektionsmodus von Belang; das Virus der Maul- und Klauenseuche haftet weitaus am besten bei intravenöser, viel schlechter bei subkutaner Einspritzung; welche Impfart bei Grippe optimal wäre, wissen wir nicht; sehr zu betonen ist, daß der Affe, welcher in Straßburg nicht filtriertes Sputum einatmete, gesund blieb (ebenso bei der Inhalation von I.B.), das Virus, welcher Art es auch sein mag, scheint beim Affen in den Luftwegen schlecht zu haften; daß andere Tiere sich günstiger verhalten, ist zu bezweifeln. Fejes (161) erhielt bei subkutaner Einspritzung in Affen unzweifelhaft positive Resultate; daß pathologisch-anatomisch keine Ähnlichkeit mit menschlicher Grippe bestand (Neufeld [178]), ist kein Gegenargument, da beim Menschen die Grippe vom Luftweg aus einwandert; auch bei Pest und Milzbrand ergibt die Einatmung andere Sektionsbilder als die subkutane Infektion. Sehr wesentlich scheint mir ferner der gleichfalls schon von Löffler betonte Umstand, daß bei der Filtration die symbiontisch mit dem eigentlichen Virus lebenden anderen Mikroorganismen entfernt werden. Gerade bei Grippe wird man an die Möglichkeit denken müssen, daß die Symbionten, welche mehr (Streptokokken) oder weniger (I.B.) regelmäßig bei Grippe gefunden werden, das Zustandekommen der Infektion beeinflussen, sei es, daß sie dieselbe erst ermöglichen, oder nur begünstigen (vgl. die komplexe Infektion nach Sahli [119]). Vielleicht ist in diesem Sinn zu deuten, daß gerade die streptokokkenhaltigen Filtrate bei P Schmidt sich wirksam zeigten. — Auch bei Scharlach und Schweinepest finden wir kultivierbare Organismen (Streptokokken bzw. Schweinepestbazillen) neben einem nicht näher bekannten Virus.

Wir haben also einerseits eine nicht ganz kleine Zahl von positiven Filtratuntersuchungen und mancherlei Möglichkeiten zur Erklärung negativer Resultate, andererseits aber unerklärbare Unstimmigkeiten im Nachweis der I.B.; die Annahme eines filtrierbaren Virus erscheint daher mindestens diskutabel.

Näheres über die Natur dieses filtrierbaren Erregers anzugeben ist schwer; die mehrfachen Züchtungsversuche (Angerer, Leschke, Binder und Prell, Fejes) haben allgemein keine günstige Beurteilung erfahren. Meine Veröffentlichungen vom 6. bzw. 12. November 1918 erfolgten aus äußeren Gründen zu einer Zeit, als noch wenig Untersuchungen, insbesondere wenig Kontrolluntersuchungen vorlagen; letzterer Umstand hat dazu geführt, daß die fraglichen kleinsten Körperchen ohne weiteres als Niederschlag gedeutet wurden, und Olsen ist der Ansicht, man könne sie in jedem Blut, auch bei Erwärmung auf 56°, zur Entwicklung bringen. Diese Angabe beweist, daß Olsen eben nicht mit den von mir gesehenen Körperchen zu tun gehabt hat; denn mir gelang es nicht, in jedem Blut ihr Wachstum hervorzurufen. Die Nährlösung nach Hottinger, mit welcher ich meine ersten Kulturversuche anstellte,

blieb auch nach Vermischung mit hämoglobinhaltigem Serum und nach mehrtägiger Bebrütung des Gemisches klar. Ich konnte infolgedessen berichten (87), daß ungeimpfte, bebrütete Kontrollproben keine „kleinsten Teilchen“ zeigten, ebenso blieben Kulturen mit filtriertem Blut des normalen Tieres optisch leer; ebenso ergab filtriertes Sputum, mit hämoglobinhaltiger Serum-Bouillon bebrütet, keine Trübung. Ferner konnten die fraglichen Gebilde nur bei 4 von 5 Grippefällen nachgewiesen werden, und zwei Kontrollen (ein Selbstmörder, ein Carzinomfall) blieben negativ (83). Schon durch diese Angaben wird unwahrscheinlich, daß die fraglichen Gebilde ein nicht organisierter Niederschlag waren; mit Sicherheit kann diese Vermutung ausgeschlossen werden durch die Beobachtung, daß das positive oder negative Kulturergebnis von der Durchlässigkeit der Berkefeldkerze abhing (ebenso bei Leschke [121]), und daß nur etwa $^3/_4$ der angesetzten Kulturen zur Entwicklung kam. Würde es sich um einen chemischen Niederschlag handeln, so müßte dieser eben mit der Sicherheit einer chemischen Reaktion in allen gleichen Proben auftreten; wenn dagegen das Wachstum nicht in allen Kulturen eintrat, die mit derselben Probe angelegt wurden, so beweist dies das Vorhandensein eines Erregers, dessen Wachstum schwierig und unregelmäßig zu erreichen ist. Die Abhängigkeit von der Porenweite der Kerze beweist, daß nicht die gelösten Stoffe (Eiweiß), sondern suspendierte Teilchen Ausgang der Trübung waren. Ich kann somit der Meinung von Olsen, ich nähme ohne weiteres an, daß die fraglichen Gebilde belebter Natur seien, durchaus nicht recht geben.

Spätere Untersuchungen ergaben weniger günstige Resultate, insofern, als andere Nährbodenproben beim Bebrüten mit Serum spontane Niederschläge ergaben. Diese entsprachen etwa der von Olsen gegebenen Beschreibung, wenngleich die Unterscheidung der Niederschläge von den bewachsenen Proben dadurch möglich schien, daß die Niederschlagsteilchen in unregelmäßiger Gestalt und Größe und „schollenartig“, wie Olsen schreibt, auftraten, während junge Kulturen runde Gebilde von durchaus gleichmäßiger Größe aufweisen; erst nach längerer Bebrütung treten regelmäßig geformte Gebilde bis zur Größe kleiner Kokken auf; auch schienen die Kulturgebilde stärker lichtbrechend. Dagegen ist nicht zu leugnen, daß die Beobachtung der kleinsten Körperchen durch die spontane Niederschlagsbildung sehr erschwert wurde; ohne den Zufall, der anfangs einen geeigneten Nährboden lieferte, hätte ich die fraglichen Gebilde nicht beobachten können, und es ist verständlich, daß manche Nachuntersuchungen sich auf die Konstatierung des Niederschlages beschränkten.

Andererseits aber ist zu erwägen, ob vielleicht doch mit dem Wort „Niederschlag“ etwas zu freigebig umgegangen wird. Die Körperchen, welche Flexner und Noguchi aus Poliomyelitismaterial züchteten, können nach Lentz und Huntemüller für Lipoidgranula gehalten werden; inzwischen ist es aber gelungen, diese Körperchen in Kolonienform zum Wachstum zu bringen, wodurch die Deutung als Niederschlag beseitigt ist. Es erscheint mir deshalb nicht angängig, alle kleinsten Gebilde, die sich aus organischen Flüssigkeiten entwickeln, kurzerhand als Niederschläge zu deuten.

Ich verkenne nicht, daß der Beweis für die Erregernatur der fraglichen Gebilde nicht erbracht ist; andererseits aber sehe ich keine Möglichkeit, sie anders zu deuten als Lebewesen. Nachdem vieles gegen die ätiologische Bedeutung der I.B. spricht, scheint es mir im hohen Grade wahrscheinlich, daß diese kleinsten Lebewesen tatsächlich die Erreger waren.

Zusammenfassung.

Die positiven I.B.-Befunde sind bei Epidemiebeginn vereinzelt und nehmen mit der Dauer der Epidemie zu. Von zahlreichen Autoren wurden I.B. nicht gefunden, obwohl sie in verschiedenen Krankheitsstadien verschiedene Teile des Respirationstraktus, teilweise mit nachgeprüften Nährböden, unter günstigen Bedingungen absuchten. Beim Mißlingen der Kultur hätte immer noch das mikroskopische Präparat die I.B. nachweisen müssen, da bei den Autoren, welche I.B. gefunden haben, Kultur und Mikroskop leidlich übereinstimmende Ergebnisse liefern; auch die Hustenplatte scheint, soweit Zahlenangaben vorliegen, die positiven Prozentsätze nicht fundamental zu verändern. Es muß daher angenommen werden, daß in großen Gebieten Deutschlands im Anfang der Grippeepidemie I.B. nicht vorhanden waren. Möglicherweise bestanden zwei örtliche Herde von I.B., nämlich der Bezirk von Straßburg, Heidelberg, Germersheim, Koblenz, Marburg einerseits, Breslau, Prag, Teschen, Troppau andererseits. Gehäuftes Vorkommen von I.B. in einzelnen Krankenhäusern und -zimmern, sowie von besonders schweren Fällen scheint vorzukommen.

Bei Nichtgrippekranken wurden I.B. häufig gefunden, mehrfach in viel höherem Prozentsatz als anderweitig bei Grippekranken.

Die Impfung eines Affen durch Tröpfchen von I.B.-Kultur und Sputum blieb erfolglos. Andererseits aber erwies sich für den Menschen epidemiologisch das versprühte Sputum, auch wenn I.B. nicht nachweisbar waren, als hochgradig infektiös. Umso mehr als für Masseninfektionen durch Tröpfchen ein sehr reichliches Vorhandensein des Erregers erforderlich ist, muß daraus der Schluß gezogen werden, daß der Erreger der Grippe ein nach den gewöhnlichen Methoden nicht darstellbares Gebilde sein muß, daß somit der I.B. nicht der Erreger sein kann.

Untersuchungen mit filtriertem Material verliefen teils ergebnislos, teils ergaben sie mikroskopisch, kulturell und durch Impfversuch positive Resultate; für die Fehlresultate lassen sich manche Gründe angeben. Es erscheint daher wahrscheinlich, daß der Erreger der Grippe ein filtrierbares Virus ist.

Gegen die Deutung der aus Grippematerial züchtbaren kleinsten Teilchen als Niederschlag sprechen zahlreiche Gründe.

Nachtrag.

Vorstehende Arbeit wurde im Laufe des Winters 1920/21 abgeschlossen; im Anschluß sollen die nunmehr im Bericht vorliegenden Verhandlungen der Mikrobiologischen Vereinigung (Jena 1920) besprochen werden (Centr. f. Bakt. I, Or., Bd. 85, S. 43[1]).

Pfeiffer fand schon in den ersten Fällen auch mikroskopisch I.B. in der von früher her bekannten Menge. Soll man annehmen, daß in anderen Gegenden I.B. nicht vorhanden waren, oder daß sie bei Epidemiebeginn von so vielen Untersuchern im Mikroskop übersehen worden sind? Diese Frage ist anscheinend kaum (Selter, S. 60 unten) erörtert worden. Wenn Neufeld angibt, daß man Kokken und I.B. in sehr vielen Fällen nicht unterscheiden könne, so könnten gelegentlich wohl auch Kokken für I.B. gehalten werden. Hinsichtlich der technischen Fehler, die für die negativen Befunde in München, Hamburg und Berlin — und doch wohl auch anderorts! — verantwortlich gemacht werden, verweise ich auf das S. 13 bis 18 Gesagte, insbesondere darauf, daß man Bazillen, die mikroskopisch häufig in ungeheuren Mengen, zuweilen in Reinkultur vorhanden sind, im mikroskopischen Bild doch nicht gut übersehen kann, besonders wenn man nach ihnen sucht.

Es ist wohl ohne weiteres klar, daß die I.B. nur im menschlichen Körper, etwa von Tuberkulösen, sich über die seuchenfreien Zeiten fortzüchten müssen (S. 48*), und spricht an und für sich gewiß nicht gegen ihre ätiologische Bedeutung; aber dafür, daß gerade von diesen Bazillenträgern die Epidemie ausgegangen sei, oder daß ihre Virulenz im Jahre 1918 sich gesteigert habe, besteht vorläufig keinerlei Beweis.

Andererseits spricht es gegen die Erregereigenschaften, wenn man I.B. (oder Stäbchen, die von diesen nicht unterschieden werden können) so häufig bei anderen Krankheiten findet, wie das bei Seligmann und Wolff der Fall war, zumal, wenn von diesen Kranken keine Ansteckungen mit Grippe ausgehen. In Breslau wurden I.B. bei Masern seltener gefunden (S. 49*); das scheint mir nur die bekannte Unregelmäßigkeit der I.B. zu beweisen — in Breslau I.B. sehr häufig bei Grippe, selten bei Masern, in Berlin (175) häufig bei Masern, seltener bei Grippe — in München hätte man wohl bei Masern ebenso wenig wie bei Grippe I.B. gefunden.

Das Kapitel der Pathogenität der I.B. ist so widerspruchsvoll als möglich. Kretz erkrankte schon bei eigentlich geringer Infektionschance, die Versuchspersonen von Uhlenhuth (58*) blieben trotz monströser Infektionsgefahr gesund (vgl. hiezu meine Bemerkung über die Wertung des Falles Kretz [S. 25], die ich vor Kenntnis der Uhlenhuthschen Versuche geschrieben hatte); epidemiologisch war die Grippe erschreckend kontagiös und die Empfänglichkeit sehr groß (vgl. W. Rosenthal, S. 63*). Pfeiffer gelang es, Affen mit I.B. (allerdings in Dosen, die im Vergleich zu den eingeatmeten groß waren) krank zu machen, ebenso gelang es den amerikanischen Autoren (allerdings mit Stämmen, die an Affen angepaßt waren). Leichtenstern (cit. nach Kolle-Wassermann, Bd. V, S. 1274) betont die Unempfänglichkeit der Affen für I.B., und der von Uhlenhuth geimpfte Affe blieb gesund. Kann man darauf Beweise aufbauen?

Im übrigen ist die Frage, ob man nicht vielleicht mit Grippekokken, in gleicher Menge wie die I.B. und womöglich nach Anpassung an Affen eingeführt, ebenfalls Erkrankung bewirken könnte, zur Zeit wohl noch offen. An den pathogenen, insbesondere toxischen Eigenschaften der I.B.

zweifelt wohl niemand; aber um dieser Eigenschaften willen müssen sie noch nicht die Primärerreger sein.

Was die Agglutination der I.B. durch Rekonvaleszentenserum betrifft, so ist es nicht verwunderlich, wenn das Serum einen Stamm agglutiniert, der sich längere Zeit in Bronchien und Lungen aufgehalten, vielleicht auch ins Innere des Körpers vorzudringen versucht hat; es ist ja auch die Agglutination von Scharlach-Streptokokken durch Scharlachserum beschrieben worden; der primäre Erreger braucht der agglutinierte Stamm deshalb noch nicht zu sein.

Nach den Ausführungen Petruschkys (S. 60*) wäre auf der Karte noch Danzig als negativ oder sehr schwach positiv einzutragen; der negative Bezirk im Nordosten Deutschlands erfährt dadurch eine Erweiterung.

Meine Zusammenfassung müßte dahin lauten, daß der I.B. ein sicher für Tiere, wahrscheinlich für Menschen pathogenes Stäbchen ist, das häufig bei Grippe, aber auch bei anderen Krankheiten, wie Masern und Keuchhusten, gefunden werden kann. Sein Zusammenhang mit der seuchenhaften Verbreitung der Grippe ist nicht ersichtlich; er kommt deshalb meines Erachtens als Primärerreger nicht in Betracht.

Literatur.

DMW. = Deutsche medizinische Wochenschrift. — MMW. = Münchener medizinische Wochenschrift. — B. kl. W. = Berliner klinische Wochenschrift. — MK. = Medizinische Klinik. — W. kl. W. = Wiener klinische Wochenschrift. — WMW. = Wiener medizinische Wochenschrift. — Schw. Corr. = Correspondenzblatt für Schweizer Ärzte.

1. DMW. 18, 1262.
2. B. kl. W. 18, 639.
3. MMW. 18, 809.
4. MMW. 811.
5. MMW. 812.
6. MMW. 19, 224.
7. MMW. 19, 224.
8. MMW. 19, 224.
9. MMW. 19, 224.
10. MMW. 19, 224.
11. B. kl. W. 18, 749.
12. DMW. 18, 775.
13. DMW. 18, 775.
14. DMW. 18, 776.
15. DMW. 18, 776.
16. Schw. Corr. 19, 628.
17. MK. 18, 683.
18. DMW. 18, 1374.
19. B. kl. W. 18, 769.
20. B. kl. W. 18, 777.
21. MMW. 18, 1303.
22. MMW. 18, 1303.
23. DMW. 18, 808.
24. DMW. 18, 1343.
25. MK. 18, 922.
26. MMW. 18, 1205.
27. MMW. 18, 1228.
28. MK. 18, 825.
29. B. kl. W. 18, 798.
30. MMW. 18, 814.
31. DMW. 18, 831.
32. DMW. 18, 831.
33. DMW. 18, 832.
34. MK. 18, 777.
35. DMW. 18, 1287.
36. B. kl. W. 18, 713.
37. DMW. 18, 863.
38. MMW. 18, 873.
39. MMW. 18, 873.
40. W. kl. W. 18, 892.
41. MMW. 18, 905.
42. MMW. 18, 928.
43. B. kl. W. 18, 778, 814.
44. DMW. 18, 933.
45. DMW. 18, 935.
46. DMW. 18, 937.
47. DMW. 18, 938.
48. DMW. 18, 932.
49. Schw. Corr. 18, 1121.
50. MK. 18, 975.
51. MK. 18, 975.
52. DMW. 18, 1152.
53. W. kl. W. 18, 993.
54. W. kl. W. 18, 1101.
55. W. kl. W. 18, 1104.
56. MK. 18, 959.
57. MK. 18, 960.
58. MMW. 18, 1097.
59. DMW. 19, 88.
60. MMW. 18, 1128.
61. MK. 18, 1009.
62. Schw. Corr. 19, 553.
63. Schw. Corr. 19, 557.
64. MK. 18, 1038.
65. MK .18, 1040.
66. DMW. 18, 1181.
67. WMW. 18, 1969.
68. WMW. 18, 1979.
69. Schw. Corr. 19, 928.
70. W. kl. W. 18, 1151.
71. W. kl. W. 18, 1151.
72. MK. 18, 1203.
73. MK. 18, 1151.
74. MK. 18, 1151.
75. MK. 18, 1151.
76. WMW. 18, 2119.
77. WMW. 18, 2159.
78. WMW. 18, 2159.
79. MK. 18, 1082.
80. MK. 18, 1092.
81. DMW. 19, 11.
82. B. kl. W. 18, 1041.
83. Ber. ärztl. Vereins München 18, 73.

84. W. kl. W. 18, 1203.
85. B. kl. W. 19, 118.
86. DMW. 19, 32.
87. MMW. 18, 1280.
88. MK. 18, 1220.
89. W. kl. W. 18, 1221.
90. DMW. 19, 141.
91. DMW. 19, 141.
92. MMW. 18, 1391.
93. W. kl. W. 18, 1251.
94. W. kl. W. 18, 1309.
95. MK. 19, 177.
96. WMW. 19, 394.
97. WMW. 19, 50.
98. WMW. 19, 55.
99. MMW. 19, 251.
100. MMW. 19, 252.
101. MMW. 19, 252.
102. W. kl. W. 18, 1274.
103. B. kl. W. 19, 141.
104. B. kl. W. 19, 141.
105. WMW. 18, 2155.
106. WMW. 18, 2155.
107. WMW. 18, 2155.
108. MMW. 18, 1373.
109. B. kl. W. 18, 1171.
110. W. kl. W. 19, 82.
111. MK. 19, 226.
112. MMW. 18, 1397 und 1457.
113. Schw. Corr. 19, 1131.
114. DMW. 19, 310.
115. DMW. 18, 1416.
116. DMW. 18, 1423.
117. DMW. 18, 1419.
118. MMW. 19, 140.
119. Schw. Corr. 19, 1.
120. B. kl. W. 19, 9.
121. B. kl. W. 19, 11.
122. DMW. 19, 390.
123. DMW. 19, 139.
124. DMW. 19, 89, 390.
125. DMW. 19, 795.
126. DMW. 19, 391.
127. DMW. 19, 310.
128. WMW. 19, 455.
129. MMW. 19, 67.
130. MMW. 19, 168.
131. MK. 19, 70.
132. DMW. 19, 446.
133. DMW. 19, 446.
134. DMW. 19, 446.
135. DMW. 19, 446.
136. DMW. 19, 447.
137. DMW. 19, 448.
138. DMW. 19, 11.
139. MK. 19, 95.
140. MK. 19, 119.
141. MK. 19, 121.
142. MK. 19, 108.
143. Schw. Corr. 19, 1225.
149. MMW. 19, 886.
150. Schw. Corr. 19, 65.
151. MK. 19, 186.
152. DMW. 19, 242.
153. MMW. 19, 231.
154. DMW. 19, 379.
155. MK. 19, 236.
156. MMW. 19, 291.
157. MMW. 19, 461.
158. DMW. 19, 673.
159. DMW. 19, 924.
160. DMW. 19, 1084, 1108.
161. DMW. 19, 653.
162. B. kl. W. 19, 557.
163. DMW. 19, 1120.
164. MK. 19, 740.
165. MMW. 19, 1458.
166. MMW. 20, 1159.
167. MK. 20, 127.
168. WMW. 20, 375.
169. W. kl. W. 20, 763.
170. MK. 20, 255.
171. DMW. 20, 899.
172. MK. 20, 593.
173. WMW. 20, 1098.
174. W. kl. W. 20, 334.
175. B. kl. W. 20, 677.
176. DMW. 20, 655.
177. DMW. 20, 795.
178. DMW. 20, 975.
179. MMW. 20, 1009.
180. DMW. 20, 655.
181. W. kl. W. 20, 901.
182. MK. 20, 1126.
183. DMW. 20, 1181.
184. Grätz, Zeitschrift f. Hyg. 88, 434.
185. Messerschmidt, Hundeshagen, Feer, Zeitschrift f. Hyg. 88, 552.
186. Prein, Zeitschr. f. Hyg., 90, 65.
187. Prell, Zeitschr. f. Hyg. 90, 126.
188. Olsen, Centr. für Bakt. I. Orig., 84, 497.
189. Olsen, Centr. für Bakt. I. Orig., 85, 12.
190. Löwenhardt, Centralblatt f. Bakt. I. Orig. 85, 81.

Über den Einfluß schlechter kohlensäurereicher Luft sowie von Lichtabschluß auf wachsende Tiere.

Von

Dr. med. **Fritz Cropp,**

Stadtarzt in Delmenhorst.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Hamburgischen Universität, Krankenhaus St. Georg.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 16. Juni 1921.)

Die Frage nach der Schädlichkeit der sogenannten »schlechten« Luft ist in früheren Jahren vielfach aufgeworfen und in verschiedener Richtung bearbeitet worden. Man hat zunächst auf die bekannte Tatsache hingewiesen, daß in geschlossenen, stark überfüllten Räumen (Theatern, Versammlungssälen usw.) bei einzelnen Personen Unbehagen, Kopfweh, Schwindel und Brechneigung auftreten und hat diese Erscheinung auf den durch die vielen atmenden Menschen vermehrten CO_2-Gehalt der Luft zurückgeführt. Als später das Irrtümliche dieser Meinung allgemein erkannt war, — der CO_2-Gehalt wurde in der Folge nur noch als Maßstab für die sonstige Verschlechterung der Luft bestimmt — wurde von mancher Seite weiter daran festgehalten, daß die in überfüllten Räumen befindliche Luft infolge ihrer sonstigen chemischen Eigenschaften schädlichen, vergiftenden Einfluß ausübe. Man dachte dabei einmal an die sogenannten Riechstoffe, die von der Schweißsekretion, von schlechten kariösen Zähnen und den Ausdünstungen aus den Kleidern herrühren und dann — dieser Standpunkt ist bis in die neueste Zeit besonders vor der Weichardtschen Schule vertreten — an direkt giftige Eigenschaften der menschlichen Ausatmungsluft. Weichardt und seine Schüler glaubten in der Ausatmungsluft auch gesunder Leute mittels der Ninhydrinreaktion Eiweißstoffe nachgewiesen zu haben, die, nach ihrer Kondensation anderen Personen eingespritzt, auf diese leistungsherabsetzend, vergiftend wirken. Sie meinten auch, die Schädlichkeit dieser Gifte (Kenotoxine) durch ein von ihnen zusammengesetztes Gegengift (Antikenotoxin) aufheben zu können.

Die Richtigkeit dieser Lehre und der sie begründenden Versuche wurde von der Flüggeschen Schule lebhaft bestritten. Flügge behauptet, daß nicht die chemischen sondern die physikalischen Eigenschaften

der Luft in stark überfüllten Räumen das Unbehagen hervorruft, daß die durch die Anwesenheit vieler Menschen entstehende Erhöhung der Temperatur und der Feuchtigkeit der Luft das Schädliche sei.

Diese Anschauung war schon vor Flügge von mehreren Forschern aufgestellt und ihre Richtigkeit durch Tierversuche experimentell bewiesen. Flügge und seine Schüler haben durch Versuche an Menschen festgestellt, daß es sich bei den genannten Schädigungen in überfüllten Räumen um eine Wärmestauung handelt.

Wenn dem gegenüber auch immer wieder von der Weichardtschen Schule gesagt wurde, die Gegenseite habe ihre Versuchsresultate infolge mangelnder Technik nicht richtig nachprüfen können, so scheint doch die Mehrzahl der Autoren heutzutage auf dem Flüggeschen Standpunkte zu stehen und die Wärmestauung bei Menschen in überfüllten Räumen als das eigentlich Schädliche anzusehen.

In den meisten Lehrbüchern der Hygiene ist allerdings die Frage noch offen gelassen, und, was vielleicht historisch zu erklären ist, der ältere Standpunkt, die Betonung der chemischen Schädlichkeiten, speziell der Riechstoffe, wird noch oft in den Vordergrund gerückt.

Bisher handelte es sich um die Entscheidung darüber, worauf die bekannten Symptome bei kurzdauerndem Aufenthalt in stark überfüllten Räumen zurückzuführen seien. Eine zweite Frage ist die, ob und inwiefern dauernder Aufenthalt in schlecht gelüfteten Räumen eine nachweisbare Schädigung für die betreffenden Menschen bedeutet. Diese Annahme ist ja sehr verbreitet, ist aber aus erklärlichen Gründen an Menschenversuchen bislang nicht bewiesen.

Die alten von Hermann, Beu, Rauer und anderen angestellten Tierversuche, die aus einer ganz anderen Fragestellung heraus unternommen wurden, arbeiteten mit so hohen CO_2-Werten — daran, daß die CO_2-Zunahme in der Luft, sofern sie durch Atemtätigkeit erfolgt, ungefähr parallel geht mit der sonstigen Verschlechterung der Luft, sei es durch chemische oder durch physikalische Einflüsse, kann man, wie schon betont, festhalten — daß sie für die Entscheidung unserer Frage auch nicht einfach verwendet werden können.

Diese Tierversuche wurden auch meist nicht sehr lange Zeit durchgeführt. Nur bei Billring, Weir-Mitchel und Bergey lesen wir, daß ihre in geschlossenen Glaskäfigen lebenden Kaninchen bei einem CO_2-Gehalt von 4 bis 7% 42 Tage am Leben geblieben sind.

Bei all diesen Versuchen wird aber immer nur angegeben, daß die Tiere »munter« waren oder daß sie »am Leben blieben«, eine genaue Beobachtung des Körperzustandes während der Versuchszeit hat nicht stattgefunden.

Zur Klärung der oben gestellten Frage haben wir nun neue Tierversuche angestellt, die wir längere Zeit durchzuführen uns bemühten und mit genauer Kontrolle des Körperzustandes verbanden.

Da die Frage der etwaigen Gesundheitsschädigung durch schlechte Luft von ganz besonderem Interesse für die heranwachsende Jugend ist — der Säugling und das Kleinkind ist in der übervölkerten Proletarierwohnung, das Schulkind in den oft überfüllten Klassen gezwungen, dauernd solche Luft einzuatmen und von vielen Seiten wird hiermit die Häufigkeit

der schlechten Allgemeinentwicklung, der Anaemie und der Rachitis in Zusammenhang gebracht — so haben wir zu unseren Versuchen junge wachsende Tiere genommen und den Einfluß schlechter Luft auf sie beobachtet.

Wir verwandten junge weiße Ratten, da uns größere Tiere unter den herrschenden Verhältnissen nicht zur Verfügung standen.

Es könnte hier vielleicht eingewendet werden, daß Ratten infolge ihrer gewöhnlichen Lebensweise nicht geeignete Versuchstiere seien, wenn die Frage der Einwirkung schlechter Luft entschieden werden sollte. Demgegenüber sei aber darauf aufmerksam gemacht, daß bekanntermaßen (auch wir haben das in Versuchen bestätigt gefunden) Ratten gegenüber mangelnder Luftzufuhr genau so empfindlich sind, wie andere Tiere oder Menschen. In einem nicht gelüfteten Glaskasten zeigen Ratten bei steigendem CO_2-Gehalt genau dieselben Erscheinungen wie andere Tiere. Sie sterben bei einem CO_2-Gehalt, der in unseren Versuchen zwischen 13,8% und 15,6% schwankte, also durchaus den bei Menschen angenommenen Werten entspricht.

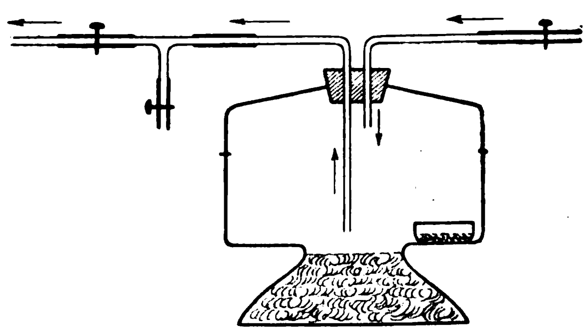
Über die Versuchsanordnung und die Resultate der Beobachtung ist im einzelnen folgendes zu sagen:

Versuch I.

Beginn: 14. VI. 19, Ende 8. VIII. 19.

5 Ratten von demselben Wurf, Tiere 5 Wochen alt (auf das Geschlecht wurde nicht geachtet).

3 Tiere wurden zur Kontrolle in einem gewöhnlichen kleinen Drahtkäfig gehalten, 2 Tiere in den Versuchskasten, einen Glas-Exsikkator von 10 l Inhalt gesperrt. Eine Zeichnung gibt am anschaulichsten die Versuchsanordnung wieder.



Die Versuchstiere halten sich am Boden des Gefäßes, das unten mit Holzwolle gefüllt ist, auf. Mittels Wasserstrahlpumpe wird durch ein Glasrohr, das tief in den Exsikkator hinabreicht, die Luft, die die Tiere atmen, abgesogen, in entsprechender Menge tritt durch ein zweites weniger langes Rohr oben in den Exsikkator frische Luft ein. An dem zur Wasserstrahlpumpe führenden Rohr bzw. Schlauch ist ein T-Rohr angebracht, aus dem nach Schließung der Luftabsaugung und Zufuhr zu Beginn des Versuchs zweimal täglich, später in größeren Abständen, Luft zur Untersuchung auf CO_2-Gehalt entnommen wird. Die Luftuntersuchungen werden teils nach der Zuntz-Geppertschen, teils nach der Haldaneschen Methode vorgenommen.

Die Wasserstrahlpumpe wurde so eingestellt, daß nach dem Zeiger der zur Kontrolle verschiedentlich eingeschalteten Gasuhr in einer Minute im Durch-

schnitt $^7/_{10}$ l Zimmerluft in den Exsikkator eingesogen wird, das bedeutet in der Stunde 42 l. In dem 10 l großen Exsikkator findet also in der Stunde ein viermaliger Luftwechsel statt. Bei dieser Durchlüftung schwankt der CO_2-Gehalt der Luft im Versuchskasten nach Ausweis der im Laufe der ganzen Versuchszeit 67 mal angestellten Luftuntersuchungen zwischen 0,40 und 1,52% in der Hauptsache aber zwischen 0,5 und 1%. Die gelegentlichen Schwankungen unter und über diese letzten Zahlen sind auf den nicht immer ganz gleichen Wasserdruck zurückzuführen. Ungefähr entsprechend diesem relativ stark erhöhten CO_2-Gehalt — nach Pettenkofer ist eine Luft ja dann ungeeignet zur Atmung, wenn ihr CO_2-Gehalt 1‰ übersteigt — ist die Luft im Exsikkator auch sonst als verdorben anzusehen. Bei jedem Öffnen des Exsikkators verbreitete sich auch ein durchdringender Geruch. Die Versuchstiere lebten also ständig in schlechter Luft im Gegensatze zu den Kontrolltieren, die die gewöhnliche Zimmerluft atmeten.

Die Luft im Exsikkator war, wie sich an den beschlagenen Wänden zeigte, stets feuchter als die Zimmerluft. Daran änderte sich auch nichts, als wir versuchten, die in ihn eintretende Zimmerluft durch Chlorkalziumröhrchen zu trocknen (der genaue Feuchtigkeitsgehalt wurde zunächst nicht bestimmt). Die am Boden befindliche Holzwolle war dementsprechend auch meist feucht. Die Temperaturdifferenz zwischen Zimmer- und Exsikkatorluft wurde nur in den letzten 2 Versuchswochen beobachtet. Bei einer Zimmerwärme von durchschnittlich 18,5° war die Temperatur im Exsikkator durchschnittlich 20,3°.

In diesen Versuchen wurde festgestellt die Nahrungsaufnahme der Versuchs- und Kontrolltiere und ihre körperliche Entwicklung, konstatiert an ihrer Gewichtszunahme. Ursprünglich war auch beabsichtigt, das Längenwachstum zu messen und zu vergleichen. Nach diesen Messungen (von Nasenspitze bis Schwanzwurzel vorgenommen) entsprach das Längenwachstum dem Gewichtswachstum. Da die Messungen infolge der immer etwas verschieden kräftig durchgeführten Streckung der Tiere auf dem Meßbrette außerdem doch keine ganz zuverlässigen Werte ergaben, wurden sie später aufgegeben, ebenso wie die Beobachtung der Ausbildung des Brustkorbes, bei der kein meßbarer Unterschied zwischen Versuchs- und Kontrolltieren gefunden wurde.

Die Nahrungsaufnahme (gewöhnlicher Küchenabfall, meist Gemüse und Kartoffeln, zuweilen versetzt mit Trockenfutter, an einzelnen Tagen Fleischreste, Reis usw.) wurde so gemessen, daß den Versuchs- und Kontrolltieren ungefähr gleiche, abgewogene, überreichliche Mengen in Glasgefäßen täglich gereicht wurden. Der immer übrig bleibende Rest wurde am nächsten Tage gewogen. Diese Bestimmung war natürlich nicht ganz genau, da kleine Mengen leicht von den Tieren in die Holzwolle verschleppt wurden; nach Möglichkeit wurden auch sie immer mitgewogen. Im Laufe der langen Versuchszeit gleichen sich diese Bestimmungsfehler wohl aus.

Es fraßen die Tiere im Exsikkator durchschnittlich etwas mehr als die Kontrolltiere, die Versuchstiere im ganzen 5336 g, die Kontrolltiere, auf die gleiche Anzahl berechnet, 4844 g. Eine Abhängigkeit der Nahrungsaufnahme von dem jeweiligen CO_2-Gehalt und der Temperatur ließ sich nicht nachweisen. Die Gewichtszunahme bei den Ratten ist aus der folgenden Tabelle 1 zu ersehen.

Die Tiere waren gezeichnet und wurden in der Regel alle 5 Tage gewogen. Während des ganzen Versuches waren die Tiere im Exsikkator und im Kontrollkäfig äußerlich gleich munter.

Versuch II.

Beginn 11. VII. 19, Ende 9. VIII. 19.

6 Ratten desselben Wurfs, 5 Wochen alt (auf Geschlecht auch diesmal nicht geachtet).

Die Versuchsanordnung war genau so wie bei Versuch I, der Exsikkator 11250 ccm groß. Der CO_2-Gehalt war durchschnittlich etwas niedriger als in Versuch I, schwankte aber auch zwischen ½ und 1%. Die Feuchtigkeit im Exsikkator war wieder größer als im Kontrollkäfig, hie Temperatur im ersteren durchschnittlich 22,5°, im letzteren 21,4°. Die Versuchstiere fraßen im ganzen 3648 g,

Tabelle I.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	g	Gewicht der Kontrolltiere g	g	g
14. VI.	42,5	55,5	38,9	46,8	50,0
19. VI.	47,5	61,0	49,5	57,0	58,5
24. VI.	51,0	66,0	58,0	70,5	72,0
28. VI.	62,0	78,5	68,5	81,5	82,5
2. VII.	63,5	86,5	76,5	90,5	93,5
7. VII.	69,5	92,5	96,0	108,0	106,0
11. VII.	74,5	97,5	101,0	113,5	114,5
15. VII.	87,5	113,5	111,0	123,5	127,5
19. VII.	94,5	114,5	118,5	126,5	134,5
23. VII.	91,0	116,0	115,5	122,0	128,5
28. VII.	98,0	120,5	121,0	131,0	138,0
1. VIII.	116,0	133,0	127,0	136,0	146,0
5. VIII.	126,0	137,0	134,5	141,0	150,5
8. VIII.	128,0	135,0	139,5	147,0	156,0

Tabelle II.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	g	g	Gewicht der Kontrolltiere g	g	g
11. VII.	42,5	46,0	49,5	41,5	48,5	50,5
15. VII.	50,5	52,5	51,5	44,5	56,5	57,0
19. VII.	52,5	52,0	52,5	48,5	63,0	60,5
23. VII.	56,5	54,5	57,5	52,5	62,5	62,5
28. VII.	61,0	58,5	63,0	66,0	76,5	81,0
2. VIII.	70,0	67,0	73,5	79,0	89,5	90,5
6. VIII.	73,5	70,5	77,0	87,0	98,0	99,5
9. VIII.	77,5	75,0	78,0	99,5	105,5	105,5

die Kontrolltiere 4187 g. Versuchs- und Kontrolltiere waren ständig munter, die Gewichtszunahme erfolgte, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist.

Versuch III.

Beginn 24. XI. 19, Ende 8. XII. 19.

6 Männchen vom selben Wurf, 3½ Wochen alt.

In der Versuchsanordnung wurde von jetzt ab folgende Änderung vorgenommen. Als Versuchskäfig wird ein sehr hoher Exsikkator (Größe 10750 ccm) genommen. Luftabsaugung und Luftzufuhr erfolgt mittels Wasserstrahlpumpe durch Röhren, die beide oben im Exsikkator münden. Die für die Luftuntersuchungen notwendigen Luftentnahmen erfolgen durch einen seitlichen Tubus. Durch den oberen Tubus geht ein Thermometer in den Exsikkator hinab. An den Glasröhren befestigt hängt ein kleines Hygrometer, das auf ein im Zimmer aufgestelltes Haarhygrometer abgeeicht ist. Um die Versuchstiere möglichst trocken zu halten, wird auf den Fuß des Exsikkators ein ganz feines Drahtnetz gelegt. Auf dieses kommt eine dünne Schicht Torfstreu. Der Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Exsikkator schwankte zwischen 60 und 72%, der der Zimmerluft war durchschnittlich 50%. Um die Exsikkatorluft möglichst zu trocknen, stellten wir zeitweise eine Schale mit H_2SO_4 in den Fuß des Exsikkators und schalteten außerdem noch in die luftzuführende Röhre einen Turm ein, der mit H_2SO_4 durchtränkten Chamottestückchen gefüllt war. Beides hatte nicht den erhofften Erfolg und wurde daher wieder bald aufgegeben. Seit der neuen Versuchsanordnung war übrigens das Lager der Tiere ständig trocken und rein. Die Kontrolltiere wurden von jetzt ab der völligen Gleichmäßigkeit halber ebenfalls

in einem oben weit offnen Glasexsikkator gehalten, in dessen Fuß auch ein Drahtnetz mit Torfstreu angebracht war. Da diese Kontrolltiere, wie gesagt, in einer relativ trockneren Luft als die Versuchstiere lebten (50% bzw. 60—72%) fügten wir eine weitere Reihe von Kontrollversuchen ein, indem wir in dem unteren Teil eines dritten Exsikkators dadurch künstlich einen höheren Feuchtigkeitsgehalt hervorriefen, daß der Exsikkatorfuß ständig mit Wasser gefüllt und das Glasgefäß selbst oben zum Teil mit einem feuchten Kissen bedeckt war. Feuchtigkeitsgehalt im Versuchsexsikkator und in diesem Kontrollgefäß waren jetzt durchschnittlich gleich.

Die Luft im Versuchsgefäß war dagegen durchschnittlich 0,5—1° wärmer als in den Kontrollgefäßen, wo sie durchschnittlich 14—16° war. Der CO_2-Gehalt im Versuchsexsikkator schwankte zwischen 0,46% und 0,70%. Gefressen haben die Tiere fast alle gleich: Versuchstiere 1596 g, Kontrolltiere in Trockenluft 1591 g und in feuchter Luft 1605 g.

Über die Gewichtszunahme vgl. Tabelle 3.

Tabelle III.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	g	Gewicht der Kontrolltiere in trockener Luft g	g	g	in feuchter Luft g	g
24. XI.	27,5	28,5	22	25	26	28	29
1. XII.	32,0	34,5	27	33	32	44	40
8. XII.	42,5	43,0	40	49	47	53	52

Das Befinden der Versuchs- und Kontrolltiere war bis zum 8. XII. 19 völlig gut. Am 9. XII. mußte der Versuch vorzeitig abgebrochen werden, da nach Platzen des Gummischlauches der Wasserstrahlpumpe die Versuchstiere erstickt waren.

Versuch IV.

Beginn 3. II. 20, Ende 31. III. 20.

6 Ratten desselben Wurfs, 4½ Wochen alt.

Versuchsanordnung dieselbe wie in Versuch III. 2 Versuchs- und 2 Kontrolltiere in feuchter Luft, Männchen, 2 Kontrolltiere in trockener Luft, Weibchen.

Der Feuchtigkeitsgehalt im Versuchs- und im künstlich feucht gehaltenen Kontrollexsikkator ist durchschnittlich der gleiche, etwa 60%, der der Zimmerluft durchschnittlich 50% (in der 2. Hälfte des Versuchs geben die Hygrometer keine zuverlässigen Werte mehr). Die Temperatur ist im Versuchskäfig durchschnittlich 0,5° höher als in den Kontrollkäfigen, wo sie zwischen 13° und 16° schwankt.

Es fraßen Versuchstiere 4594 g, Kontrolltiere in feuchter Luft 4366 g, in trockener Luft 4251 g. Über die Gewichtszunahme vergleiche Tabelle IV.

Am Schlusse dieses Versuchs wurden die Versuchs- und Kontrolltiere, die alle stets munter gewesen waren, auf Haemoglobin und Erythrozytenzahl untersucht. Die Werte sind auf der Tabelle verzeichnet. Blutentnahme durch Herzpunktion, Hg Bestimmung nach Authenrieth, Ery-Zählung in Bürkerscher Kammer.

Die Versuchs- und die Kontrolltiere in der feuchten Kammer wurden darauf getötet. Ihr Volumen, gemessen an Wasserverdrängung, war so gut wie gleich. Makroskopisch war an den Organen kein krankhafter Befund zu erheben.

Versuch V.

Versuchsanordnung dieselbe. 4 Männchen vom selben Wurf, knapp 4 Wochen alt.

Beginn 1. VI. 20, Ende 31. VII. 20.

Da diesmal nur vier Tiere zur Verfügung standen, wurde von Aufstellung eines künstlich feucht gehaltenen Kontrollexsikkators Abstand genommen.

Tabelle IV.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	g	der Kontrolltiere in trockener Luft g	g	in feuchter Luft g	g
3. II.	45,0	47,0	39	42	40	40
7. II.	54,0	50,0	40	52	50	50
11. II.	60,0	57,0	46	61	60	60,5
16. II.	68,5	65,0	50	72	70	77
20. II.	80,0	72,0	55	80	81	80
24. II.	86,0	75,0	60	90	85	90
28. II.	92,0	77,5	52	93	87	90
4. III.	107,0	95,0	62	105	109	107
8. III.	120,0	107,0	60	112	120	120
12. III.	130,0	116,0	70	115	130	130
16 III.	140,0	125,0	70	117	132	132
20. III.	152,0	134,0	75	120	144	145
24. III.	160,0	140,0	79	120	152	154
27. III.	154,0	134,0	74	120	149	150
31. III.	169,0	155,0	79	125	160	160
	Hg = 72% Ery = 9,42 Mill.		in trockener Luft: Hg = 78,5% Ery = 10,96 Mill.		Hg = 77% Ery = 8,76 Mill.	
	Hg = 71% Ery = 10,32 Mill.		in feuchter Luft: Hg = 84,25% Ery = 9,06 Mill.		Hg = 81,0% Ery = 11,86 Mill.	

Tabelle V.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	g	der Kontrolltiere g	g
1. VI.	32	40	27	35
4. VI.	39	57	32	55
7. VI.	34	72	34	64
11. VI.	54	87	37	79
16. VI.	64	98	43	86
20. VI.	69	101	46	88
24. VI.	70	115	47	105
28. VI.	80	127	57	135
2. VII.	81	131	60	137
6. VII.	87	140	65	140
10. VII.	98	147	75	147
14. VII.	106	157	83	155
19. VII.	112	159	87	155
23 VII.	116	164	95	167
27. VII.	127	170	110	172
31. VII.	135	174	112	176
	Hg = 85,5%	Hg = 74%	Hg = 75,5%	Hg = 71%

Der Feuchtigkeitsgehalt der Luft im Versuchs- und Kontrollkäfig wurde aus äußeren Gründen nicht mehr bestimmt. An einzelnen Tagen war der Versuchsexsikkator von innen beschlagen. Auch die Futtermenge wurde nicht mehr täglich gewogen. Den Tieren wurde jedesmal so viel Futter gegeben, daß sie es bis

zum nächsten Tage nicht auffraßen. Die Temperatur betrug durchschnittlich im Kontrollkasten 20,1° und im Versuchsexsikkator 19,3°. Der CO_2-Gehalt im Versuchsexsikkator stieg im Laufe der 8 Wochen von 0,32 % auf 1,26 %. Erythrozyten nicht gezählt. Gewicht- und Hg-Werte siehe Tabelle V.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß kohlensäurereiche und dementsprechend auch sonst schlechte Luft auf die Entwicklung normaler wachsender Ratten, beurteilt nach Allgemeinzustand, Längen- und Gewichtswachstum, Hämoglobin- und Erythrocytenzahl und makroskopischen Befund der Organe, auch bei verhältnismäßig langer Einwirkung keinen nachweisbaren Einfluß ausgeübt haben. Entsprechend der Gewichtszunahme ist auch die Nahrungsaufnahme augenscheinlich nicht durch den Aufenthalt in schlechter Luft beeinflußt worden. Bei dem Vergleich der Entwicklung in sonst gleich einwandsfreier, trockener und feuchter Luft ergibt sich kein Unterschied zu Gunsten der ersteren.

Wenn man nach den Gewichtskurven der beiden ersten Versuche geneigt war, einen solch schädigenden Einfluß schlechter Luft anzunehmen, so muß man sich nach dem Resultate der 3 letzten Versuche, in denen ja auch einzelne Kontrolltiere, speziell die Weibchen in Versuch 4, in ihrer Entwicklung zurückblieben, sagen, daß die Minderentwicklung der Versuchstiere in den beiden ersten Fällen wohl nur ein zufälliger Befund war. Wir wissen ja, daß männliche wachsende Tiere ihre weiblichen Geschwister an Gewichtszunahme unter gleichen Lebensbedingungen oft erheblich übertreffen. Da in den ersten Versuchen auf das Geschlecht der Tiere nicht geachtet wurde, so muß man immerhin mit der Möglichkeit rechnen, daß hier die sich schlechter entwickelnden Versuchstiere Weibchen waren. Jedenfalls tritt in unseren Versuchen kein gesetzmäßiger Vorgang zu Tage.

Ob man nun diese Erfahrungen einfach auf menschliche Verhältnisse übertragen kann, ist eine andere Frage. Wenn es auch sicher ist, daß schlechte Luft, speziell ekelerregende Riechstoffe manchem Menschen für eine Zeitlang den Appetit nehmen können, und ihn auch sonst in seinem Wohlbefinden stören, so dürfen wir doch wohl annehmen, daß gesunde Menschen nach längerem Aufenthalt in schlechter Luft sich an diese gewöhnen und dann durch sie keinen Schaden mehr erleiden unter der Voraussetzung, daß die Temperatur und der Feuchtigkeitsgehalt nicht zu hoch sind. Die Erfahrungen im Kriege mit dem Leben im Unterstande sprechen in derselben Richtung.

Was im Besonderen Kinder angeht, so muß man nach dem Ausfall unserer Versuche es zum mindesten als unbewiesen ansehen, daß die bei ihnen so häufig gefundene Minderentwicklung, Anämie und Rachitis auf den Aufenthalt in schlechter Luft zurückzuführen sind. Dieses Urteil, das sich ja auf bis dahin gesunde Menschen bezieht, widerspricht unserer Meinung nach durchaus nicht der Tatsache, daß bei bestehender Anämie, Rachitis oder allgemeiner Unterentwicklung, möge sie nun hervorgerufen sein durch konstitutionelle oder irgend welche äußeren Momente frische Luft als ein mächtiger Anreiz zur Besserung wirken kann und als solche therapeutisch ausgenutzt werden soll.

Wir haben unsere Tiere in schlechter Luft bei normaler Nahrung aufwachsen lassen. Es hat ihnen in ihrer Entwicklung nichts geschadet. In letzter Zeit haben nun besonders englische und amerikanische Forscher (Mendel und Osborne, Steenboek und andere) an Tierversuchen festgestellt, daß vitaminarme Ernährung erhebliche Störungen in der Allgemeinentwicklung und speziell in Knochenwachstum zur Folge haben. Es besteht nun noch die Möglichkeit, daß die Kombination von vitaminarmer Ernährung und schlechter Luft diese krankhaften Erscheinungen beschleunigen und verstärken, dem entsprächen auch die Verhältnisse im Leben des Proletarierkindes, bei dem oft unzureichende Ernährung und Aufwachsen in schlechter Luft vorliegen. Aufklärung hierüber bekämen wir, wenn wir unsere Versuche bei vitaminarmem Futter wiederholen würden, je nachdem, ob sich dann in der Zeit des Eintretens der erwähnten krankhaften Befunde in guter und in schlechter Luft ein erheblicher Unterschied zeigen würde.

Solche Untersuchungen sind für später im Hamburger pharmakologischen Institut in Aussicht genommen.

* * *

Im Anschlusse an diese Untersuchungen haben wir Versuche angestellt über den Einfluß des Lichtabschlusses auf wachsende Tiere.

Bekannt sind ja die Untersuchungen Örums, der auch über die bis dahin gefundenen Versuchsresultate anderer Autoren berichtet, Örum, der unter anderem auch wachsende Tiere monatelang im Dunkeln ließ und sie dabei regelmäßig auf ihren Blutbefund kontrollierte, fand in der ersten Zeit relative Zunahme des Hg und der Ery, nach 3 bis 6 Wochen Fallen des Hg-Gehaltes bei unveränderter Eryzahl und noch später Wiedervermehrung von Hg und Ery. Er glaubt, diesen Befund, der nach ihm bei ausgewachsenen Tieren noch auffallender in Erscheinung tritt, auf eine Verminderung der Gesamtblutmenge und des Gesamt-Hg bei längerem Leben in der Dunkelheit zurückführen zu müssen.

Da Örums Resultate von denen der von ihm angeführten anderen Autoren zum Teil stark abweichen, untersuchten später Grober und Sempel das Blut von Pferden, die jahrelang in Zechen unter Tage gelebt hatten. Sie fanden bei ihnen bei gutem Allgemeinzustande keine Verminderung der Ery, eher eine gewisse Zunahme, dagegen eine mäßige Verminderung des Hg-Gehaltes.

Auch über die Frage des Stoffwechsels, der Futteraufnahme herrscht bislang keine Einigkeit. Bei einzelnen der von Örum zitierten Forschern lesen wir, daß ihre im Dunkeln lebenden Versuchstiere fetter als die Kontrolltiere im Tageslicht waren, bei anderen hören wir das Gegenteil. In der Praxis sucht man ja Lichtabschluß öfters zu Mastzwecken zu benutzen.

Bei diesen wechselnden Versuchsresultaten haben wir es für zweckmäßig gehalten, an neuen Versuchen festzustellen, welchen Einfluß längerer Aufenthalt in der Dunkelheit auf wachsende Tiere ausübt. Uns interessierte hierbei nicht nur der Blutbefund, sondern auch besonders die Frage der Allgemeinentwicklung und evtl. krankhafter Erscheinungen bei Lichtabschluß.

Wir haben aus äußeren Gründen auch zu diesen Versuchen junge weiße Ratten genommen, wobei wir betonen möchten, daß weiße Ratten im Gegensatze zu den gewöhnlichen Hausratten seit Generationen gewohnt sind, im Tageslichte zu leben.

Kontroll- und Versuchstiere lebten in gleich großen Käfigen in zwei fast gleich großen Zimmern mit gleichem Feuchtigkeitsgehalt der Luft, von denen eines dem Tageslichte freien Zutritt gewährte, während das andere völlig dunkel war. Im Dunkelzimmer war die Temperatur durchschnittlich 1° wärmer als im Hellzimmer.

Versuch I.

Beginn 17. VI. 19, Ende 15. IX. 19.

4 Tiere desselben Wurfs, 5 Wochen alt, auf das Geschlecht wurde nicht geachtet, unter den Helltieren augenscheinlich ein Männchen und ein Weibchen.

Über die Gewichtszunahme und den Blutbefund am Schlusse des Versuchs vergleiche

Tabelle VI.

Datum	Gewicht der Versuchstiere im Dunkeln		Gewicht der Kontrolltiere	
	g	g	g	g
17. VI.	29,3	34,1	32,0	34,3
20. VI.	32,3	35,5	35,3	39,5
24. VI.	32,5	36,0	39,5	40,5
28. VI.	39,5	43,5	51,5	51,0
2. VII.	39,5	46,0	54,5	55,5
7. VII.	48,5	57,0	68,0	65,0
11. VII.	53,0	59,0	71,5	68,5
15. VII.	61,5	64,5	77,5	77,5
19. VII.	61,5	68,5	87,0	86,5
23. VII.	61,5	69,5	84,5	83,0
28. VII.	67,0	76,0	94,5	94,0
2. VIII.	72,5	79,0	102,5	101,5
6. VIII.	70,0	80,0	108,5	107,5
9. VIII.	77,0	85,0	118,0	120,0
13. VIII.	80,0	89,0	120,0	138,0*
18. VIII.	81,0	91,5	115,0	119,5
22. VIII.	88,0	99,0	127,5	128,0
27. VIII.	94,0	102,0	131,5	121,0
1. IX.	95,0	106,5	138,0	120,0
5. IX.	93,0	104,0	136,0	109,5
10. IX.	104,0	115,0	139,0	112,0
15. IX.	106,0	116,0	140,0	105,0
* 6 Junge geworfen.		Hg = 81% Ery = 8,15 Mill.	Hg = 74% Ery = 8,00 Mill.	Hg = 45% Ery = 7,76 Mill.

Aus äußeren Gründen ist nur bei einem der Versuchstiere das Blut untersucht.

Am 13. VIII. wirft das bis dahin schwerere Helltier 6 Junge, seitdem Gewichtsabnahme.

Gefressen haben während der Versuchszeit die Dunkeltiere 5765 g, die Helltiere 6987 g. Alle Tiere stets munter.

Versuch II.

Beginn 19. VII. 19, Ende 15. IX. 19.

4 Tiere desselben Wurfs, gut 4 Wochen alt. Am 5. IX. wirft eines der Helltiere 5 Junge. Gewichtszunahme und Blutbefund gibt

Tabelle VII.

Datum	Gewicht der Versuchstiere g	Gewicht der Versuchstiere g	Gewicht der Kontrolltiere g	Gewicht der Kontrolltiere g
19. VII.	38,5	40,5	37,5	40,5
23. VII.	41,5	43,5	38,0	42,0
28. VII.	51,0	51,5	47,5	52,5
2. VIII.	61,5	61,0	54,0	63,0
6. VIII.	65,5	65,0	57,5	66,0
9. VIII.	71,5	74,5	66,0	76,0
13. VIII.	74,0	78,0	68,0	81,0
18. VIII.	76,0	82,0	71,0	83,0
22. VIII.	85,5	91,0	82,0	101,0
27. VIII.	92,0	102,0	94,0	114,0
1. IX.	101,0	109,5	114,0	142,0
5. IX.	102,5	109,0	105,0	147,0
10. IX.	113,0	121,0	109,0	115,0
15. IX.	120,0	130,0	101,0	125,0
	Hg = 72,5 % Ery = 9,00 Mill.	Hg = 81 % Ery = 8,00 Mill.	Hg = 81 %. Ery = 9,84 Mill.	Hg = 81 % Ery = 8,80 Mill.

Es fraßen die Dunkeltiere 4700 g, die Helltiere 5668 g. Alle Tiere stets munter.

Versuch III.

6 Tiere desselben Wurfs, 5 Wochen alt.

Beginn 23. IX. 19, Ende 10. XI. 19.

Gewichtszunahme und Blutbefund sind zu ersehen aus

Tabelle VIII.

Datum	Gewicht der Versuchstiere			Gewicht der Kontrolltiere		
23. IX.	29 g	32 g	33 g	25 g	29 g	33 g
29. IX.	42 »	47 »	45 »	42 »	49 »	50 »
6. X.	48 »	54 »	53 »	50 »	55 »	55 »
13. X.	54 »	59 »	60 »	57 »	61 »	65 »
20. X.	60 »	65 »	69 »	63 »	70 »	75 »
27. X.	67 »	67 »	75 »	68 »	75 »	82 »
3. XI.	74 »	74	79 »	74 »	84 »	89 »
10. XI.	77 »	78 »	84 »	77 »	86 »	92 »
	Hg = 68 % Ery = 9,02 Mill.	Hg = 49 % Ery = 8,36 Mill.	Hg = 65 % Ery = 8,24 Mill.	Hg = 71 % Hg = 62,5 % Ery = 9,89 Mill.	Hg = 66,75 % Ery = 8,28 Mill. Ery = 8,28 Mill.	

Die Dunkeltiere fraßen 8968 g, Helltiere 8891 g. Alle Tiere stets munter. Sektion der Dunkeltiere am Schlusse ergibt keinen krankhaften Befund an Organen.

Nach diesen Versuchen hat auch längerer Aufenthalt in der Dunkelheit auf wachsende Tiere keinen Einfluß ausgeübt. Die Entwicklung, nach dem Gewichtswachstum beur-

teilt, ist bei den im Hellen und im Dunkeln aufwachsenden Tiere in gleicher Weise erfolgt. Bei den Dunkeltieren sind keine krankhaften Änderungen an den Organen gefunden und auch die am Ende der Versuchszeit vorgenommenen Blutuntersuchungen haben keinen gleichmäßigen Unterschied bei Versuchs- und Kontrolltieren ergeben.

Der Umstand, daß auch in dieser Versuchsreihe die Kontrolltiere des ersten Versuchs eine steilere Gewichtskurve aufweisen, ist wohl wieder einem Zufall zu verdanken und weist bei dem gegenteiligen Resultate der beiden nächsten Versuche erneut darauf hin, wie vorsichtig man bei der Beurteilung einzelner Tierversuche sein muß.

Wenn man glaubt, die Versuchsresultate auf menschliche Verhältnisse anwenden zu dürfen, so würde sich aus ihnen ergeben, daß auch Lichtmangel auf die Allgemeinentwicklung und die Erytropoese des wachsenden Organismus nicht nachteilig wirkt.

Literatur.

Alte Literatur, siehe Formanek: Archiv für Hygiene, Bd. 38.
Billring, Weir-Mitchel und Bergey, zitiert nach hygienischer Rundschau 1897.
Flügge, Zeitschrift für Hygiene, Bd. 49.
Konrich, Korff-Petersen, Lange, Zeitschrift für Hygiene, Bd. 78.
Weichard und Wiemer, Berliner Klinische Wochenschrift, 1916, Heft 49.
Rothfeld, Zwanglose Abhandlungen aus den Grenzgebieten der Pädagogik und Medizin, 1916, Heft 6.
Winslow, Kimball, Lee, Miller, Phelps, Thorndike, Palmer, zitiert nach hygienischer Rundschau, 1918.
Örum, Pflügers Archiv, Bd. 114.
Albitzky, Pflügers Archiv, Bd. 145.
Grober und Sempel, Deutsches Archiv für klinische Medizin, Bd. 129, Heft 5 und 6.

Die Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum mit chemischen Desinfektionsmitteln.[1])

I. Mitteilung.

Von

Prof. Dr. **P. Uhlenhuth** und Privatdozent Dr. **K. W. Jötten.**

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes Berlin-Dahlem und dem Hygienischen Institut der Universität Leipzig.)

(Bei der Redaktion eingegangen am 21. Juni 1921.)

Der unschädlichen Beseitigung des tuberkulösen Auswurfs kommt bei der Bekämpfung der Tuberkulose eine nicht unerhebliche Bedeutung zu. Und doch wundert man sich, daß selbst in Krankenhäusern und Heilstätten einer einwandsfreien Beseitigung des Auswurfs vielfach noch nicht die nötige Beachtung zuteil wird. Das liegt wohl daran, daß wir trotz umfangreicher Versuche, die gleich nach der Entdeckung des Tuberkelbazillus vor nunmehr fast 40 Jahren einsetzten, ein schnell wirksames Desinfektionsverfahren, abgesehen vom Kochen des Sputums nicht besitzen. Trotz der schönen dafür konstruierten Apparate wird aber das Kochen häufig nicht durchgeführt und im Privathaushalte, wo man auf den Küchenherd angewiesen ist, wird es aus begreiflichen Rücksichten unterlassen, denn das unappetittliche infektiöse Sputum gehört nicht auf den Kochherd und sollte von der Küche ferngehalten werden. Und doch darf man gerade jetzt, wo die Tuberkulose in so erschreckender Weise zugenommen hat, kein Mittel unversucht lassen, um die T.B., wo man ihrer nur habhaft werden kann, möglichst schnell abzutöten. Es ist ja ganz klar, daß die Tröpfcheninfektion bei der Verbreitung der Tuberkulose die Hauptrolle spielt. Ihre Verhütung ist aber nur dadurch möglich, daß man sich in angemessener Entfernung von dem Kranken hält; die dabei in unsichtbaren Tröpfchen umhergeschleuderten Bazillen wird man aber nicht fassen können. Wenn das Sputum in nachweisbarer Menge nach außen entleert ist, so ist es unsere Pflicht, nach Methoden zu suchen, um die darin enthaltenen T.B. zu vernichten, mag man die von solchem Sputum ausgehenden Gefahren hoch oder niedrig bewerten. Daß sie vorhanden sind, darüber brauchen wir nicht weitere Worte zu verlieren. Wenn auch

[1]) Wegen des großen Umfangs erscheint die Arbeit in mehreren Abschnitten.

manche Ärzte auf dem Standpunkte stehen, daß alle Gefahren beseitigt sind, wenn das Sputum in das Klosett ausgegossen und mit der Wasserspülung fortgeschwemmt ist, so dürfte das aber doch, ohne auf die Begründung näher einzugehen, vom hygienischen Standpunkte zu beanstanden sein, vor allem für die einfacheren Verhältnisse in kleinen Städten und auf dem platten Lande, wo Anlagen mit Wasserspülung und Schwemmkanalisation fehlen. Außerdem bleiben bei dem Ausgießen des Sputums alle die Infektionsgefahren bestehen, die von den undesinfizierten Spuckgefäßen ausgehen, deren Reinigung durch Spülen und Bürsten dann auch noch die Gefahr der Tröpfcheninfektion mit sich bringt, die umso weniger zu unterschätzen sein dürfte, als Berichte über dabei erfolgte Infektionen gerade aus jüngster Zeit dringend zur Vorsicht mahnen.

Es erscheint aber auch für den Laien ganz inkonsequent, wenn man ihn anhält, mit dem Versprühen von Sputumteilchen beim Husten, Niesen und Sprechen doch recht vorsichtig und rücksichtsvoll gegen seine Mitmenschen zu sein und demgegenüber das entleerte Sputum vor seinen Augen so behandelt, als sei es eine ganz harmlose Flüssigkeit, die man ohne weiteres in ein Ausgußbecken gießen darf. Das wirkt nicht gerade erzieherisch auf den Kranken.

Wir verlangen deshalb eine vorherige Desinfektion und, um dieses zu erreichen, ist es nötig, daß der Auswurf nicht überall in Wohnungen entleert wird, sondern in Flaschen, Gläsern, Näpfen gesammelt wird, um dann der Desinfektion zugänglich gemacht werden zu können.

Daß das Bedürfnis nach einer einwandfreien aber gleichzeitig auch einfachen Abtötungsmethode besteht, beweisen uns die häufigen Klagen vor allem der Fürsorgeärzte und Fürsorgeschwestern über den Mangel eines brauchbaren Desinfektionsverfahrens in der Praxis, weiter aber auch das vom Zentralkomitee für die Bekämpfung der Tuberkulose neuerdings erlassene Preisausschreiben. Alle chemischen Präparate aber, die bisher empfohlen wurden, wirken unsicher oder haben sich auch aus anderen Gründen nicht bewährt.

Seit ca. 15 Jahren hat sich Uhlenhuth zum Teil mit seinen Mitarbeitern Xylander, Messerschmidt und H. Citron[1]) mit der chemischen Desinfektion des tuberkulösen Sputums beschäftigt. Sie gingen dabei von der Erwägung aus, daß die Desinfektionsmittel nur langsam in die Sputumballen eindringen können. Um nun ein schnelleres Herankommen an die in diesen Sputumballen eingeschlossenen Tuberkelbazillen durch gleichzeitige Homogenisierung des Sputums zu ermöglichen,

---

1) Uhlenhuth u. Xylander, Arbeiten a. d. kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 32, S. 178.

Uhlenhuth u. Messerschmidt, Milit.-ärztl. Ges. Straßburg, 29. IV. 1912, D. med. Wochenschr. 1912, Nr. 42.

Uhlenhuth, 38. Vers. d. D. Ver. f. öffentl. Gesundheitspflege in Aachen. Sept. 1913. D. Vierteljahrsschr. f. öffentl. Gesundheitspflege. Bd. 46. 1914, S. 109.

Messerschmidt, Beitrag zur Frage der Sterilisation tuberkulösem Sputums durch Phenolderivate. D. med. Wochenschr. 1914, S. 2067.

Messerschmidt, Phobrol, Grotan und Sagrotan. Dieselbe Zeitschrift, 1915, S. 861.

haben sie eine Kombination von Desinfizientien mit Antiformin vorgenommen. Da die Versuche aber infolge der Ungunst der Kriegsverhältnisse nur wenig gefördert werden konnten und infolgedessen noch zu keinem abschließenden Urteil geführt hatten, so wurden sie von uns im Laufe der letzten Jahre wieder aufgenommen. Es soll im folgenden darüber berichtet werden.

Es war bei den Versuchen unser Streben darauf gerichtet, ein Desinfektionsmittel ausfindig zu machen, das innerhalb kurzer Zeit die Tuberkelbazillen selbst zähschleimigen und dickballigen Sputums abtötete. Da dieses nach den bisherigen Erfahrungen nur nach vorheriger Homogenisierung Aussicht auf Erfolg bieten konnte, so wurden zunächst Kombinationen von Desinfektionsmitteln mit dem als besten Homogenisierungsmittel bekannten Antiformin versucht, wobei berücksichtigt werden mußte, daß durch das Zusammenbringen mit Antiformin einerseits das Desinfiziens in seiner bakterientötenden Wirksamkeit durch das Antiformin nicht geschädigt und andererseits durch den Zusatz des Desinfiziens die homogenisierende Kraft des Antiformins nicht zu sehr beeinträchtigt oder gar aufgehoben werden durfte.

Da bereits früher günstige Resultate mit 25 % Antiforminlösungen, denen Jodpräparate zugesetzt waren, erzielt werden konnten, so wurden zunächst die Versuche nach dieser Richtung hin ausgeführt.

Bei orientierenden Vorversuchen konnte festgestellt werden, daß bei 1 proz. Zusatz des Jodpräparates „Griserin"[1] (Jod-Oxychinolinsulfonsaures Natron) die homogenisierende Wirkung einer 25 proz. Antiforminlösung nicht beeinträchtigt wurde, während bei Verwendung größerer Mengen von 2 und 4 % „Griserin" die Homogenisierung des Sputums durch ein derartiges Antiformingemisch doppelt solange dauerte als bei einer Antiforminlösung, die mit Aqua dest. angesetzt war. Infolgedessen konnten stärkere Jodlösungen nicht in Frage kommen. Ob aber derartige Jodlösungen zur Desinfektion des Sputums ausreichten und ob nicht durch die gleichzeitige Verwendung von 25 % Antiforminlösungen die bakterizide Kraft des Jods gegenüber den Tuberkelbazillen im Sputum beeinträchtigt wurde, konnten erst Desinfektionsversuche mit nachfolgenden Tierimpfungen entscheiden.

Zur Klärung dieser Fragen wurden in Petrischalen je 10 ccm Sputum, das reichlich Tuberkelbazillen enthielt, mit derselben Menge 25 proz. Antiforminlösungen, denen 1, 2 und 4 % Griserin zugesetzt waren, zusammengebracht und den früheren Versuchen entsprechend dem Desinfektionsmittel 40 Minuten lang ausgesetzt. Als Kontrolle diente eine Petrischale, die 10 ccm Sputum und 10 ccm 25 proz. Antiforminlösung ohne Jodzusatz enthielt. Nach Ablauf von 40 Min. wurden die verschiedenen, völlig homogenisierten Sputumflüssigkeiten ½ Stunde lang zentrifugiert, sodann wurde die Desinfektionsflüssigkeit abgegossen und die Bodensätze 3 mal kurz mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und abzentrifugiert. Die auf diese Weise von dem Desinfektionsmittel befreiten Bodensätze wurden in einigen ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und je 2 Meerschweinchen zu gleichen Teilen subcutan injiziert.

1) „Griserin" ist fast dasselbe wie Yatren.

Tabelle 1.
Versuch mit 25% Antiforminlösung und 1—4% Griserinzusatz.

a) 10 ccm 25 % Antiforminlösung mit 1 % Griserinzusatz + 10 ccm Sputum 40′ lang	b) 10 ccm 25 % Antiforminlösung mit 2 % Griserinzusatz · 10 ccm Sputum 40′ lang	c) 10 ccm 25 % Antiforminlösung mit 4 % Griserinzusatz + 10 ccm Sputum 40′ lang	d) 10 ccm 25 % Antiforminlösung + 10 ccm Sputum 40′ lang
29. III. M. 3805 † 5. IV. Meerschweinchenseuche	29. III. M. 3807 † 30. IV. Typischer Tb-Befund	29. III. M. 3809 † 2. IV. Sektion o. B.	29. III. M. 3811 † 8. IV. Meerschweinchenseuche
M. 3812 † 31. III. Meerschweinchenseuche	M. 3810 † 30. VI. Typischer Tb-Befund	M. 3808 † 12. IV. Sektion o. B.	M. 3806 † 24. IV. Typischer Tb-Befund

Versuchsergebnis: 25 proz. Antiforminlösungen mit 1—4% Griserinzusatz reichen nicht aus, um Tuberkelbazillen im Sputum bei 40′ langer Einwirkungsdauer abzutöten.

Die Versuchsergebnisse sind aus der beigegebenen Tabelle 1 zu ersehen, aus der hervorgeht, daß die 25 % Antiforminlösungen mit 2 und 4 % Griserinzusatz eine Abtötung der Sputumtuberkelbazillen nicht herbeigeführt haben, da die Meerschweinchen, die mit den entsprechenden Bodensätzen gespritzt waren, an einer typischen Tuberkuloseerkrankung eingingen. Die Meerschweinchen, die mit den Bodensätzen der 2proz. Jodantiforminlösung und der Antiforminlösung ohne Jodzusatz gespritzt waren, gingen einige Tage nach der Injektion an einer Meerschweinchenseuche, unter der unsere Sputumversuche zu leiden hatten, zugrunde.

Ebenso negativ war der Ausfall einer zweiten Versuchsreihe, in der nach völliger Homogenisierung des Sputums mit 25 und 50% Antiformin die Jodlösung zugesetzt war. Hierbei wurden je 10 ccm tuberkelbazillenhaltigen Sputums mit der gleichen Menge Antiforminlösung versetzt und nach 15′ je 20 ccm einer 10proz. Jodkalilösung zugegossen. Dieses Gemisch wurde weitere 15 Minuten stehen gelassen. Als Kontrolle diente eine gleiche Sputummenge, die 30 Minuten lang mit 10 ccm einer 50% Antiforminlösung behandelt wurde und außerdem eine weitere Sputumprobe in 10 ccm phys. Kochsalzlösung, der nach 15′ 20 ccm 10 % Jodkalilösung zugesetzt wurde. Nachdem nach Ablauf von 30 Minuten alle Sputa in der bei der 1. Versuchsreihe beschriebenen Weise weiterbehandelt waren, wurden schließlich die abzentrifugierten Bodensätze wieder in Kochsalzlösung aufgeschwemmt Meerschweinchen s. c. injiziert.

Die Tierversuchsergebnisse sind aus der beigefügten Tabelle 2 ersichtlich und zeigen, daß auch auf diese Weise innerhalb ½ Stunde eine Abtötung der Tuberkelbazillen des Sputums nicht zu erreichen war.

Außer diesen Jodpräparaten wurde auch Kalium chromat. in Verbindung mit Antiformin zur Sputumdesinfektion herangezogen, nachdem in orientierenden Vorversuchen beobachtet werden konnte, daß die homogenisierende Wirkung von 30proz. Antiforminlösung durch 5% Kaliumchromatzusatz nicht nur nicht beeinträchtigt, sondern sogar verbessert wurde. So wurden z. B. 10 ccm eines dickballigen, zäh-

Tabelle 2.
Versuche mit 25 % Antiforminlösungen und nachfolgendem Jodkalizusatz.

a) 10 ccm Sputum + 10 ccm 25 % Antiformin 15′ lang + 20 ccm 10 % Jodkalilösung 15′ lang	b) 10 ccm Sputum + 10 ccm 50 % Antiformin 15′ lang + 20 ccm 10 % Jodkalilösung 15′ lang	c) 10 ccm Sputum + 10 ccm 50 % Antiformin 30′ lang	d) 10 ccm Sputum + 10 ccm phys. Kochsalzlösung 15′ lang + 20 ccm 10 % Jodkalilös. 15′ lang
31. III. M. 3819. † 20. V. Typischer Tb-Befund	31. III. M. 3817. † 1. IV. Meerschweinchenseuche	31. III. M. 3821. † 30. V. Typischer Tb-Befund	31. III. M. 3824. † 23. V. Typischer Tb-Befund TB +
M. 3820. † 2. V. Typischer Tb-Befund	M. 3818. † 1. IV. Meerschweinchenseuche	M. 3822. † 1. IV. Meerschweinchenseuche	M. 3825. † 18. V. Typischer Tb-Befund

Versuchsergebnis: Keine Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum, das 1,5′ mit 25 oder 50 % Antiforminlösung mit oder ohne nachfolgenden Zusatz von 10 % Jodkalilösung 15′ lang behandelt war.

schleimigen Sputums von 25 ccm 30% Antiformin allein erst in 15 Minuten völlig homogenisiert, während die gleiche Menge desselben Sputums von Antiformin mit 5% Kal. chromat. schon nach 8 Minuten völlig gelöst war.

Mit derartigen Kal. chromat.-Antiformingemischen angestellte Desinfektionsversuche, die in der beigefügten Tabelle 3 zusammengestellt sind, haben in 4 größeren Versuchsreihen trotz der überraschend günstigen Homogenisierung nur in einem Versuche nach 50 Minuten langer Einwirkungsdauer zu einer Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum geführt (M. 79 und 80), während bei den 3 anderen Versuchen durch Tierimpfungen noch virulente Tuberkelbazillen in den Bodensätzen der 50 Minuten und 1 Stunde lang vorbehandelten Sputa nachweisbar waren.

Es wurde nun noch versucht, durch Zugabe eines weiteren guten Desinfektionsmittels unter Ausnützung der homogenisierenden Wirkung des Kal. chrom.-Antiformingemisches eine Abtötung der Tuberkelbazillen zu erzielen.

Hierzu wurde ein neues Chlormetakresolpräparat der Firma Heyden (= p. Chlormeta-Kresol, 1,25 g Subst. enthält 1,0 g Chlorkresol) verwandt, das bis zu 4% in 30% Antiforminlösung löslich war. Außerdem wurde in einer weiteren Versuchsreihe noch an Stelle des Chlormetakresols ein 5% Zusatz von Karbol ausprobiert.

Während nun mit dem Carbol-Kal. chrom.-Antiformingemisch nach 50—60 Minuten langer Einwirkungsdauer keine Beeinflussung der Tuberkelbazillen erzielt werden konnte, war es, wie aus der Tabelle 3 hervorgeht, nach gleich langer Einwirkung 1,25—2 proz. Chlormetakresol-Kal.-chrom.-Antiforminlösungen auch nur im Versuch II und IV möglich, bei 5 Tieren, die mit derartig vorbehandelten Sputumbodensätzen gespritzt waren, typischen Tuberkulose-Sektionsbefund zu erheben. Von den übrigen 7 Tieren waren 4 kurze Zeit nach der Injektion wahrscheinlich der herrschenden Meerschweinchenseuche erlegen, die übrigen 3, von denen 2 erst 3 Monate nach Versuchsbeginn umgebracht wurden, hatten bei der

Tabelle 8. Versuch I.

a) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Aq. dest. ad. 200,0 davon 25 ccm Lösung a) + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Chlormetakresol. 2,5 Aq. dest. ad. 200,0 davon 25 ccm Lösung b) + 10 ccm Sputum 50′ lang	c) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Acid. carbolic. 10,0 Aq. dest. ad. 200,0 davon 25 ccm Lösung c) + 10 ccm Sputum 50′ lang	d) 200 ccm 30% Antiformin 25 ccm Lösung d. + 10 ccm Sputum 50′ lang
4. VII. M. 78 † 22. VII. Sektion o. B.	4. VII. M. 81 † umgebracht 10. X. T. B.—	4. VII. M. 84 † umgebracht 10. X. Typischer Tb-Bef.	4. VII. M. 87 † umgebracht 10. X. Sektion o. B. T. B.
M. 79 † umgebracht 10. X. T. B. —	M. 82 † 15. VII. Sektion o. B. (Seuche?)	M. 85 † 28. VII. Typ. Tb-Befund T. B. +	M. 88 † umgebracht 10. X. In Lungen verdächtige Knötchen. T. B. —
M. 80 † umgebracht 10. X. T. B. —	M. 83 † 6. VII. Sektion o. B. T. B.— Drüsen nicht vergrößert	M. 86 † 13. IX. Typ. Tb-Befund	M. 89 † 25. VII. In Drüsen und in Leber T. B+.

Versuchsergebnis: Der Versuch ergibt einwandfrei, daß das Carbol-Kal-chromat-Antiformingemisch die T. B. innerhalb 50′ nicht abgetötet hat, dagegen hat das Kal-chrom-Antiformingemisch die T.B. abgetötet, ebenso das Kal-chrom-Antiformingemisch mit 1,25% Chlormetakresolzusatz bei Tier 81, die beiden anderen Tiere waren zu früh an Seuche eingegangen. Die 30% Antiforminlösung hatte 2 mal die T. B. abgetötet, während bei dem 3. gespritzten Meerschweinchen T. B. festzustellen waren.

Versuch II.

50′ lang	50′ lang	50′ lang	50′ lang
19. VI. M. 3996 † 1. VII. Sektion o. B.	19. VI. M. 3999 † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund	19. VI. M. 153 † umgebracht 8. X. In beiden vergrößerte Drüsen, die verkäst sind, T.B+.	19. VI. M. 155 † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund
M. 3997 † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund	M. 4000 † 7. VII. Sektion o. B.	M. 154 † 22. VII. Drüsen beiderseits geschwollen und verkäst. T. B +. Organe noch frei.	M. 156 † 15. VIII. Typischer Tb-Befund T. B. +
M. 3998 † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund	M. 152 † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund		M. 157 † 14. VII. Sektion nicht einwandfrei, fragl. Knötchen in Milz. Sternaldrüsen geschwollen. Seuche?

Versuchsergebnis: Dieser Versuch zeigt, daß eine 30% Antiforminlösung mit Kal-chromat-Chlormetakresol oder Carbolzusatz nicht ausreicht, um die im Sputum enthaltenen Tuberkelbazillen innerhalb 50′ abzutöten.

Tabelle 3. (Fortsetzung.)

Versuch III.

a) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Aq. dest. ad 200,0 davon 25 ccm Lösung a) + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Chlormetakresol 2,5 Aq. dest. ad 200,0 davon 25 ccm Lösung b) + 10 ccm Sputum 50′ lang	c) Kal. chrom. 10,0 Antiform. 60,0 Acid. Carbolic. 10,0 Aq. dest. ad 200,0 davon 25 ccm Lösung c) + 10 ccm Sputum 50′ lang	d) 200 ccm 30% Antiformin. 25 ccm Lösung d) + 10 ccm Sputum 40′ lang
1 Stunde 23. VI.	1 Stunde 23. VI. Chlormetakresol 4,0	1 Stunde 23. VI.	1 Stunde 23. VI.
M. 15 † geschlachtet 27. VII. Keine Tb. der Organe. In Drüsen vereinzelte Tb-Nester.	M. 18 † umgebracht 8. X. Keine T. B.	M. 21 † 9. VIII. Typischer Tb-Befund T. B. +	M. 24 † umgebracht 8. X. T. B. —
M. 16 † 8. VII. Peritonitis.	M. 19 † 3. VII. Sektion o. B.	M. 22 † 5. VII. Sektion o. B.	M. 25 † 9. VIII. Typischer Tb-Befund
M. 17 † 8. VII. Sektion o. B.	M. 20 † 5. VII Sektion T. B — Seuche?	M. 23 † 23. VIII. Typischer Tb-Befund. T. B. +	M. 26 † umgebracht 8. X. T. B. —

Versuchsergebnis: Nicht einheitlich, da ein großer Teil der Versuchstiere zu kurze Zeit nach der Injektion interkurrent eingegangen ist. Jedenfalls ist aus dem Versuch zu ersehen, daß eine 30proz. Antiforminlösung mit Kal-chromat-Karbolzusatz bei 1stündiger Einwirkungszeit die Tuberkelbazillen im Sputum nicht abtötet. Außerdem gelang es bei einem Tier nicht Tb. festzustellen, das mit dem Bodensatz von Sputum gespritzt war, auf das eine 30% Antiforminlösung mit 5% Kal.-chromatzusatz 1 Stunde eingewirkt hatte. Außerdem konnte in einem Falle die Abtötung der T. B. festgestellt werden, bei dem eine 30% Antiforminlösung mit 2% Chlormetakresolzusatz 1 Stunde lang eingewirkt hatte. Endlich war das Ergebnis der Einwirkung einer 30% Antiforminlösung ohne jeglichen Zusatz zweifelhaft, indem nämlich die Weiterverimpfung des behandelten Bodensatzes bei einem gespritzten Tiere eine typische Tuberkulose herbeiführte, während bei zwei gleichzeitig mit demselben Bodensatz geimpften Tieren sich weder tuberkulöse Erkrankungsformen noch Tuberkelbazillen in Drüsen und Organen nachweisen ließen.

Sektion keinerlei tuberkulöse Krankheitserscheinungen gezeigt. Hierbei ist aber bemerkenswert, daß von den zu diesen 3 Meerschweinchen gehörenden Antiforminkontrolltieren, wie aus der Tabelle 3 hervorgeht, 4 gleichfalls nicht erkrankten und bei der Sektion keine Tuberkulose nachweisen ließen.

Daß durch die Kal.-chromat.- und Chlormetakresol-Antiformingemische auch schon eine gewisse Schädigung der Tuberkelbazillen hervorgerufen wird, ließen Versuche mit Reinkulturen erkennen, von denen je 1 mgr in 1 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, mit je 2 ccm der verschiedenen Desinfektionsgemische 1 Stunde zusammengebracht wurden. Wenn auch eine Abtötung der Bazillen nach Ablauf dieser Einwirkungszeit nicht zu erkennen war, so konnte doch eine Be-

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

Versuch IV.

a) Kal. chrom. 10,0 Antiformin 60,0 Aq. dest. ad. 200,0 davon 25 ccm Lösung a) + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) Kal. chrom. 10,0 Antiformin 60,0 Chlormetakresol. 2,5 Aq. dest. ad. 200,0 davon 25 ccm Lösung b) + 10 ccm Sputum 50′ lang	c) Kal. chrom. 10,0 Antiformin 60,0 Acid. carbolic. 10,0 Aq. dest. ad 200,0 davon 25 ccm Lösung c) + 10 ccm Sputum 50′ lang.	d) 200 ccm 30 % Antiformin. 25 ccm Lösung d) + 10 ccm Sputum 50′ lang
50′ lang 25. VII.	50′ lang 25. VII. Chlormetakresol 4,0	50′ lang 25. VII	50′ lang 25. VII.
M. 186 † 11. VIII. Kleine Leistendrüsenschwellung mit vereinzelten T. B. +	M. 180 † umgebracht 14. X. Typischer Tb-Befund	M. 183 † 29. VII. Starke Nekrose u. Gangrän. (Karbol!)	M. 189 † umgebracht 10. X. Typischer Tb-Befund T. B. + in Drüsen, Lungen und Milz.
M 187 † umgebracht 14. X. Typischer Tb-Befund R-Drüsen verkäst T B. +	M. 181 † umgebracht 14. X. Knötchen in Lungen und Milz T. B. + Drüsen verkäst.	M. 184 † 28. VII. Sektion o. B.	M. 4036 † 2. X. Typischer Tb-Befund T. B. +
M. 188 † umgebracht 14. X. Typischer Tb-Befund Drüsen beiderseits verkäst.	M. 182 † umgebracht 14. X. Typischer Tb-Befund T. B. +	M. 185 † 13. IX. T. B. der Lungen, Leber, Milz T. B. + Drüsen beiderseits vergrößert	M. 4035 † umgebracht 14. X. Typische Tb. der Lungen und Leber. Drüsen rechts verkäst.

Versuchsergebnis: Der Versuch ergibt einwandfrei, daß keine der vier Mischungen ausgereicht hat, um eine Sterilisierung des tuberkulösen Sputums immer mit Sicherheit zu gewährleisten.

Versuch mit Reinkulturen.

a) 2 ccm Lösung a) + 2 ccm 1 μ. MTB. 115. 1 Stunde	b) 2 ccm Lösung b) + 2 ccm 1 μ. MTB. 115. 1 Stunde	d) 2 ccm Lösung d) + 2 ccm 1 μ. MTB. 115. 1 Stunde	Kontrolle 2 ccm Na-Cl-Lösung + 2 ccm 1 μ. MTB. 115. 1 Stunde lang eingewirkt.
7. VII. M. 94 † 29. VII. Kienfaltendrüsen geschwollen und verkäst T. B. + Sonst keine tuberk. Veränderungen.	7. VII. M. 96 † umgebracht 7. X. Drüsen beiderseits geschwollen und verkäst T. B. + Organe frei von Tb.	7. VII. M. 95 † 10. VII. Pneumonie.	7. VII. † umgebracht 7. X. Typischer Tb-Befund aller Organe. In Lungen, Leber, Milz und Drüsen T. B. +

Versuchsergebnis: Aus diesem Versuch geht einwandfrei hervor, daß eine 30 % Antiforminlösung weder allein noch mit 5 % Kal-chromatzusatz mit und ohne 1,25 % Chlormetakresol ausreicht, um Reinkulturen von Tuberkelbazillen innerhalb 1 Stunde abzutöten.

einträchtigung ihrer Virulanz insofern festgestellt werden, als nämlich die mit den Desinfizientien vorbehandelten Tuberkelbazillen bei den Versuchstieren nur eine tuberkulöse Erkrankung der Kniefaltendrüsen mit positivem Bazillenbefunde ohne Organerkrankungen innerhalb dreier Monate hervorgerufen hatten, während bei dem mit unbehandelten Tuberkelbazillen gespritzten Kontrolltiere innerhalb derselben Zeit eine ausgebreitete Tuberkulose aller Organe hervorgerufen war.

In einer weiteren Versuchsreihe konnte mit einer 25proz. Antiforminlösung mit 3% Chlormetakresolzusatz, in der auf die Zugabe von Kal. chrom. verzichtet wurde, zwar auch innerhalb kurzer Zeit eine gute Homogenisierung des Sputums erreicht werden, es war aber nach 40 Minuten langer Einwirkungszeit eine Sterilisierung des Sputums nicht herbeizuführen. Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, starb von 2 Meerschweinchen, die mit dem vom Desinfiziens befreiten Bodensatz s. c. gespritzt waren, das eine an einer typischen Tuberkulose, während das andere am selben Tage 3½ Wochen p. inj. wahrscheinlich der Meerschweinchenseuche erlag, ohne Tuberkelbazillen oder tuberkulöse Krankheitserscheinungen aufzuweisen. Ebenso wenig vermochte eine 3% Chlormetakresollösung allein ohne Antiforminzusatz innerhalb 40 Minuten eine Sputumdesinfektion herbeizuführen, wie aus der Tabelle 4 ersichtlich ist; auch war nach Ablauf dieser Einwirkungszeit infolge Fehlens des Antiformins das Sputum nicht homogenisiert, sondern lag geronnen am Boden der Versuchsschalen.

Aus diesen Versuchen geht somit hervor, daß 3% Chlormetakresollösungen allein oder 25proz. Antiforminlösungen mit 1—2% Chlormetakresolzusatz mit und ohne 5% Kal. chromat. nicht geeignet sind, eine schnelle Desinfektion des Sputums zu ermöglichen.

Würde aber auch durch ein derartiges Gemisch eine Schnelldesinfektion erreicht worden sein, so dürften sich der allgemeinen Einführung sowohl

Tabelle 4.

Versuche mit Chlormetakresol, mit und ohne Antiforminzusatz.

a) 10 ccm 25 % Antiformin mit 3 % Chlormetakresolzusatz + 10 ccm Sputum 40′ lang	b) 10 ccm 25 % Antiforminlösung + 10 ccm Sputum 40′ lang	c) 10 ccm 3 % Chlormetakresollösung + 10 ccm Sputum 40′ lang
29. III. M. 3813 † 22. IV. Typischer Tb-Befund T. B.+.	29. III. M. 3811 † 5. IV. Meerschweinchenseuche	29. III. M. 3815 † 21. V Typischer Tb-Befund
M. 3814. † 22. IV. Sektion o. B. T. B.— Drüsen frei.	M. 3812 † 31. III. Meerschweinchenseuche.	M. 3816 † 7. IV. Meerschweinchenseuche

Versuchsergebnis: In 10 ccm Sputum konnten mit gleichen Mengen 25% Antiforminlösung mit 3% Chlormetakresolzusatz oder mit gleicher Menge 3% Chlormetakresollösung allein eine Abtötung der T. B. nicht erzielt werden. Nur bei einem Tier, das mit Sputumbodensatz, der mit 25% Antiformin + 3% Chlormetakresol vorbehandelt war, gespritzt wurde, konnten 24 Tage nach der Injektion keine Tuberkulose und keine Tuberkelbazillen weder in Organen noch Drüsen nachgewiesen werden. (Zu früh gestorben!)

der hohe Preis, wie die Umständlichkeit der Mischung und vor allem die ganz erhebliche Ätzwirkung entgegengestellt haben. Wir haben daher nach einem anderen, weniger komplizierten und billigeren Verfahren gesucht und nach der Richtung hin Versuche angestellt, ob es nicht möglich wäre, mit dem Antiformin allein in geeigneter Verdünnungsflüssigkeit ohne den umständlichen Zusatz eines besonderen Desinfiziens eine schnelle und ausreichende Desinfektion des Phtisikerauswurfs zu erzielen.

Wie aus den vorhin beschriebenen Versuchen hervorgeht, gelang es nämlich durch entsprechende Zusätze von Chemikalien, z. B. Kal. chrom. die homogenisierende Wirkung des Antiformins zu steigern und es lag daher der Gedanke nahe, ob nicht schon durch die Verwendung anderer Verdünnungsflüssigkeiten eine Steigerung der homogenisierenden und gleichzeitig auch der bakteriziden Wirkung gegenüber T.B. zu erreichen wäre.

Bei daraufhin angestellten Versuchen (s. Tabelle 5) mit verschieden starken Kochsalzlösungen konnten wir uns in der Tat davon überzeugen, daß die homogenisierende Kraft des Antiformins durch Ansetzen mit bestimmten Kochsalzlösungen erheblich gesteigert werden kann. So konnte beim Zusammenbringen von je 10 ccm desselben dickballigen, zähschleimigen Sputums mit je 20 ccm 25proz. Antiforminlösungen, die mit gesättigten und dann verdünnten Kochsalzlösungen angesetzt waren, beobachtet werden, daß die völlige Lösung der Sputumballen am schnellsten in dem Antiformin erfolgte, das mit $\frac{1}{2}$—$\frac{1}{10}$ gesättigter Kochsalzlösung verdünnt war. Während hierbei die komplette Auflösung schon innerhalb 20 Minuten erfolgt war, war dieses bei Verwendung von konzentrierter Kochsalzlösung nach 21 Minuten und von $\frac{1}{25}$ gesättigter Kochsalzlösung und Aqua dest. erst nach 37 Minuten der Fall.

Ob aber mit der homogenisierenden auch gleichzeitig die bakterizide Kraft des Antiformins durch Vermischen mit Kochsalzlösungen derartig gesteigert werden könnte, daß T.B. in solchen Gemischen abgetötet würden, konnte allein durch Tierimpfungen entschieden werden.

Tabelle 5.

10 ccm Sputum + 20 ccm konzentrierte Kochsalzlösung mit 25 % Antiformin	10 ccm Sputum + 20 ccm ½ gesättigter Kochsalzlösung mit 25 % Antiformin	10 ccm Sputum + 20 ccm ⅕ gesättigter Kochsalzlösung mit 25 % Antiformin
Nach 6′ beginnende Lösung	Nach 6′ beginnende Lösung	Nach 7′ beginnende Lösung
Nach 10′ keine Ballen mehr, nur noch fadenziehende Massen	Nach 10′ keine Ballen mehr, nur noch fadenziehende Massen	Nach 10′ noch ein Ballen neben fadenziehenden Massen
Nach 15′ fast völlig gelöst	Nach 15′ fast völlig gelöst, mehr als in der ersten Reihe	Nach 15′ noch Schlieren und Fäden
Nach 20′ Flüssigkeit noch schleimig	Nach 20′ völlige Lösung	Nach 20′ völlige Lösung
Nach 21′ völlige Lösung		

Wie denn auch aus Tabelle 6 zu ersehen ist, haben derartige Versuche mit 30proz. Antiformin in konzentrierter Kochsalzlösung ergeben, daß eine Abtötung der T.B. im Phtisikersputum selbst nach ½ stündiger Einwirkungszeit nicht erfolgte, auch ein weiterer 5% Carbolzusatz konnte eine Besserung der Abtötungsergebnisse nicht herbeiführen.

Bei Verwendung von halbgesättigter Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit zu 25% Antiforminlösung und 30 Minuten bis 1 Stunde langer Einwirkungsdauer schien dann zunächst, wie aus der Tabelle 7, Versuch I ersichtlich ist, eine Abtötung der Sputumtuberkelbazillen erreicht zu sein. Während nämlich die Kontrolltiere, die mit den Bodensätzen von mit Antiformin in Aqua dest. vorbehandelten Sputen vorbehandelt waren, an typischer Tuberkulose eingingen, blieben von den anderen Tieren einige am Leben und ließen, nach Monaten umgebracht, keine Spur von Tuberkulose erkennen.

Als aber dieselbe Versuchsanordnung in 5 weiteren Reihen wiederholt wurde (s. Tabelle 7, Versuch 2—6) konnte nicht ein einziges Mal eine Abtötung der Tuberkelbazillen selbst nach 50 Minuten langer Einwirkung einer derartigen 25% Antiformin-Kochsalzlösung festgestellt werden. Es war also auch auf diese Weise keine ausreichende Steigerung der bakteriziden Kraft des Antiformins zu erzielen.

Weiter konnte die homogenisierende Kraft des Antiformins wesentlich durch Verwendung e r w ä r m t e r L ö s u n g e n gesteigert werden. In zahlreichen Versuchen hatten wir uns nämlich davon überzeugen können, daß z. B. 45° warmes 10proz. Antiformin geballte, zähschleimige Sputa schon nach 7 Minuten gelöst hatte, während dasselbe von der gleichen Probe stammende Sputum von zimmerwarmem 10proz. Antiformin erst nach 20 Minuten völlig homogenisiert war. Noch auffälliger trat dieser Unterschied bei der Einwirkung von 60° warmen Lösungen zutage; in einem Falle war hiermit schon nach 1½ Minuten eine komplette Lösung

Lösungsversuche.

10 ccm Sputum + 20 ccm 1/10 gesättigter Kochsalzlösung mit 25% Antiformin	10 ccm Sputum + 20 ccm 1/25 gesättigter Kochsalzlösung mit 25% Antiformin	10 ccm Sputum + 20 ccm 25% Antiforminlösung in Aqua destil. at.
Nach 6′ unverändert	Nach 6′ unverändert	Nach 6′ unverändert
Nach 10 beginnende Lösung	Nach 10′ wenig verändert	Nach 10′ wenig verändert
Nach 15′ noch vereinzelte Sputumbällchen	Nach 15′ beginnende Lösung	Nach 15′ beginnende Lösung
Nach 20′ völlige Lösung	Nach 20′ noch 2 Ballen	Nach 20′ Lösung wenig weiter
	Nach 32′ noch Schlieren und Fäden	Nach 32′ noch ein Ballen
	Nach 35′ fast vollig gelöst	Nach 35′ fast alles gelöst
	Nach 37′ völlig gelöst	Nach 37′ total gelöst

erfolgt, wohingegen bei 10proz. zimmerwarmem Antiformin eine Lösung erst nach 8 Minuten eintrat.

Außerdem war anzunehmen, daß durch die Einwirkung solcher erwärmter Antiforminlösungen die T. B. im Sputum bereits innerhalb kurzer Zeit abgetötet würden, zumal Beobachtungen darüber vorliegen, daß Tuberkelbazillen in Wasser bei 60° innerhalb ¼ Stunde absterben (siehe Flügge, Grundriß der Hygiene, 8. Aufl., S. 643). Wie wir uns aber durch ad hoc angestellte Tierversuche überzeugen konnten, reichte für tuberkelbazillenhaltiges Sputum selbst ein halbstündiger Aufenthalt in

Tabelle 6.

Versuch 1.

a) 10 ccm Sputum + 10 ccm 30 % Antiforminlösung, in gesättigter NaCl-Lösung hergestellt 30′ lang	b) 10 ccm Sputum + 10 ccm 30 % Antiformin, in Aq. dest. hergestellt 30′ lang
25. IV.	25. IV.
M. 3860 † 14. VII. Typischer Tb-Befund. In Lungen und Milz T. B. +.	**M. 3863** † 26. V. Typischer Tb-Befund.
M. 3861 † 26. V. Typischer Tb-Befund.	**M. 3864** † 26. V. Typischer Tb-Befund.
M. 3862 † 22. V. In Drüsen und Milz T. B. +.	**M. 3865** † 21. V. In den Drüssen von T. B. +.

Versuchsergebnis: 30% Antiformin, mit konzentrierter Kochsalzlösung oder Aq. dest. hergestellt, tötete Sputumtuberkelbazillen bei ½stündiger Einwirkungszeit nicht ab.

Versuch 2.

a) 16,25 ccm gesättigte NaCl-Lösung 7,5 ccm Antiformin (30 %) 1,25 ccm Carbol + 5 ccm Sputum 30′ lang	b) 17,5 ccm gesättigte NaCl-Lösung 7,5 ccm Antiformin (30 %) + 5 ccm Sputum 30′ lang
24. V.	24. V.
M. 3918 † 27. VIII. Schwerer Tb-Befund. In Drüsen T. B. +.	**M. 3921** † 31. V. Meerschweinchenseuche.
M. 3919 † 1. VII. Stark verfault. In Milz verdächtige Knoten T. B. nicht nachweisbar.	**M. 3922** † 26. V. Meerschweinchenseuche.
M. 3920 † 26. V. Meerschweinchenseuche.	**M. 3923** † 26. V. Meerschweinchenseuche.

Versuchsergebnis: Nicht einwandsfrei, da 4 Tiere an Meerschweinchenseuche kurze Zeit nach der Injektion eingingen. Bei einem Versuchstier konnte jedoch festgestellt werden, daß eine 30% Antiforminlösung, mit gesättigter Kochsalzlösung hergestellt und 5% Karbolzusatz nicht ausreichte, um die T. B. im Sputum abzutöten. Das 6. Tier, das mit dem in gleicher Weise vorbehandelten Bodensalz gespritzt war, zeigte bei den 5 Wochen nach der Injektion vorgenommenen Sektion tuberkuloseverdächtige Herde in der Milz, T. B. konnten allerdings nicht nachgewiesen werden.

warmem Wasser in keinem Falle aus, um die darin enthaltenen T.B. abzutöten.

Durch die gleichzeitige Einwirkung des Antiformins mußte aber unseres Erachtens die Eiweißkoagulation hintangehalten und durch die ziemlich rasch erfolgende Homogenisierung des Sputums eine intensivere Wirkung der Wärme auf die freiliegenden T.B. ermöglicht werden; zudem mußte durch die Wärme auch die bakterizide Kraft des Antiformins nicht unwesentlich gesteigert werden.

Tabelle 7.

Versuch 1.

a) 20 ccm 25% Antiforminlösung, die mit ½ gesättigter NaCl-Lösung hergestellt ist + 10 ccm Sputum 30′ lang	b) 20 ccm 25% Antiforminlösung, die mit ½ gesättigter NaCl-Lösung hergestellt ist + 10 ccm Sputum 1 Stunde lang	c) 20 ccm 25% Antiforminlösung, mit Aq. dest. hergestellt + 10 ccm Sputum 30′ lang
13. V.	13. V.	13. V.
M. 3884 † 13. IX. frei von T. B.	M. 3889 † 19. V. Meerschweinchenseuche.	M. 3886 † 4. VII. Typischer Tb-Befund.
M. 3885 † 19. V. Meerschweinchenseuche.	M. 3890 † 26. V. Meerschweinchenseuche.	M. 3887 † 2. VII. Drüsen r. geschwollen und verkäst T. B. +. Tuberk. der Lungen
	M. 3891 † 13. IX. umgebracht, frei von Tub. T. B.	M. 3888 † 22. V. Meerschweinchenseuche.

Versuchsergebnis: Eine 25% Antiforminlösung, die mit einer ½ gesättigten Kochsalzlösung hergestellt war, reichte aus. um in einem Falle bei 30′ langer Einwirkungsdauer die T. B. im Sputum abzutöten, ebenso positiv war bei einem zweiten Versuchstiere das Versuchsergebnis, nachdem das Desinfiziens 1 Stunde lang eingewirkt hatte. Die Kontrollversuche mit einer 25% Antiforminlösung in Aq. dest. ergeben bei 2 eingespritzten Tieren typischen Tb.-Befund, woraus hervorgeht, daß eine mit Aq. dest. hergestellte 25% Antiforminlösung T. B. in ½ Stunde nicht abtötet.

Versuch 2.

a) 20 ccm 25% Antiforminlösung hergestellt mit ½ gesättigter NaCl.-Lösung + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) 20 ccm 25% Antiforminlösung, hergestellt mit Aq. dest. + 10 ccm Sputum 50′ lang
23. IX.	23. IX.
M. 4148 † 11. VII. Tuberkulose der Lunge und Leber.	M. 4151 † 15. XII. Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz.
M. 4149 † 9. XII. umgebracht, Tuberkulose der Lunge und Milz, T. B. +	M. 4152 † 10. XII. schwere Tuberkulose.
M. 4150 † 10. XII. schwere Tuberkulose.	M. 4153 † 12. XII. T. B. +.

Die auf Grund dieser Erwägungen angestellten Versuche haben denn auch zu einer Bestätigung unserer Annahme geführt. Die Versuchsanordnung war dabei folgendermaßen:

Tabelle 7. (Fortsetzung.)

Versuch 3.

a) 20 ccm 25 % Antiforminlösung, hergestellt mit 1/2 gesättigten NaCl-Lösung + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) 20 ccm 25 % Antiforminlösung, hergestellt mit Aqua dest. + 10 ccm Sputum 50′ lang
10. X.	10. X.
M. 4187 † 16. XII. Schwere Tuberkulose T. B. +	M. 4190 † 9. XII. Schwere Tuberkulose aller Organe T. B. +
M. 4188 † 14. X. Pneumonie links Peritonitis Infiltration des ganzen Unterhautzellgewebes.	M. 4191 † 8. XII. Schwere Tuberkulose der Lungen, Leber u. Milz.
M. 4189 † 15. XII. Schwere Tuberkulose T. B. +	M. 4192 † 8. II. Umgebracht. Schwere Tuberkulose.

Versuch 4. (Versuchsanordnung wie bei 3)

10. X.	10. X.
M. 4193 † 23. X. Keine Tuberkulose.	M. 4196 † 22. XII. Tuberkulose T. B. + in Drüsen u. Milz.
M. 4194 † 15. XII. Tuberkulose T. B. +	M. 4197 † 13. X. Peritonitis, Pericarditis. Infiltration im Unterhautzellgewebe mit Abszeßbildung
M. 4195 † 9. XII. Tuberkulose T. B. +	M. 4198 † 16. XII. Schwere Tuberkulose (+ nach Weil.)

Versuch 5.

a) 20 ccm 25 % Antiforminlösung, hergestellt mit ½ gesättigter NaCl-Lösung + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) 20 ccm 25 % Antiforminlösung, hergestellt mit ¾ gesättigter NaCl-Lösung + 10 ccm Sputum 50′ lang	c) 20 ccm 25 % Antiforminlösung, hergestellt mit Aqua dest. + 10 ccm Sputum 50′ lang
11. X.	11. X.	11. X.
M. 4199 † 15. X. Peritonitis. Infiltration des ganzen Unterhautzellgewebes.	M. 4202 † 11. XII. In Lungen, Leber, Milz T. B. +	M. 4207 † 6. II. Schwere Tuberkulose T. B. + in Drüsen u. Lungen.
M. 4200 † 4. II. Schwere Tub. In Drüsen T. B. +	M. 4203 † 31. X. Pneumonie.	M. 4206 † 13. X. Sektion o. B.
M. 4201 † 12. XII. Schwere Tuberkulose T. B. +	M. 4204 † 10. XI. Typischer Tb-Befund T. B. nicht gefunden.	

Tabelle 7. (Fortsetzung.)

Versuch 6.

a) 20 ccm 25% Antiforminlösung, hergestellt mit $^1/_2$ gesättigter NaCl-Lösung + 10 ccm Sputum 50′ lang	b) 20 ccm 25% Antiforminlösung, hergestellt mit Aqua dest. + 10 ccm Sputum 50′ lang
11. X.	11. X.
M. 4208 † 26. III. Schwere Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz.	M. 4211 † 28. I. Schwere Tuberkulose T. B. +
M. 4209 † 17. X. Peritonitis.	M. 4212 † 14. X. Peritonitis. In Lungen einzelne Herde. Linke Kniefaltendrüsen gerötet und geschwollen. T. B. —
M. 4210 † 3. XI. Befund? Leistendrüsnn geschwollen T. B. — sonst o. B.	

In ein großes 60° C warmes Wasserbad wurden zwei 1 l fassende Bechergläser gebracht, von denen das erste mit 250 ccm 10% Antiforminlösung und das zweite mit der gleichen Menge Aqua dest. beschickt war. Zwei in die Flüssigkeit eintauchende Kontrollthermometer zeigten die jeweilige Temperatur in den Gefäßen an. War nun die Wärme der Flüssigkeiten konstant 60° C, so wurden in den ersten Versuchsreihen nur kleine Mengen dickballigen, tuberkelbazillenhaltigen Sputums zu je 10 ccm eingefüllt und weitere 10 ccm desselben Sputums in ein 3. Becherglas, das außerhalb des Wasserbades bei Zimmertemperatur aufgestellt war und ebenfalls 250 ccm 10proz. Antiforminlösung enthielt. Nach Ablauf von 10 bis 30 Minuten wurden aus den einzelnen Bechergläsern 50 ccm Flüssigkeit entnommen, in Zentrifugengläser gebracht, in kaltem Wasser abgekühlt und ½ Stunde scharf zentrifugiert. Die Bodensätze wurden dann 3mal mit Kochsalzlösung gewaschen und schließlich in wenigen ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt Meerschweinchen subcutan eingespritzt.

Wie aus den Protokollen (in Tabelle 8) der in dieser Weise angestellten 7 Versuchsreihen hervorgeht, konnten vermittels Tierimpfungen in keinem der mit 60° warmen 10proz. Antiformin vorbehandelten Sputa infektionsfähige T.B. mehr nachgewiesen werden. Leider ging uns nur eine große Zahl der Versuchstiere infolge der herrschenden Meerschweinchenseuche ein, wodurch das Bild natürlich erheblich getrübt wird. So verfügen wir infolgedessen nur über ein Tier mit genügend langer Beobachtungszeit, das mit dem Sputumbodensatz nach 10 Minuten langer Einwirkungsdauer von 60° warmer 10proz. Antiforminlösung gespritzt und 5 Monate nach der Injektion noch völlig gesund war. Die Kontrolltiere mit 10proz. zimmerwarmem Antiformin waren bereits 10 Wochen nach der Impfung an typischer Tuberkulose zugrunde gegangen.

Absolut einwandfrei und nicht gestört durch Tierverlust war der Versuch 2, aus dem mit Sicherheit geschlossen werden konnte, daß die T.B. des Sputums bereits nach ¼stündigem Aufenthalt in 60° warmem Antiformin abgestorben waren, während 60° warmes Wasser allein und 10proz. Antiforminlösung bei Zimmertemperatur die T.B. in ihrer Virulenz nicht erheblich beeinträchtigt hatten, so daß die mit ihnen gespritzten Meerschweinchen alle an typischer, schwerer Tuberkulose eingingen. In

den übrigen Versuchen waren ebenfalls in keinem der 20 oder 25 Minuten lang mit 60° warmem 10proz. Antiformin behandelten Sputa infektiöse T.B. mehr nachweisbar, während das bei den mit 60° warmem Wasser allein versetzten Sputis immer gelang, sofern die Versuchstiere nicht an

Tabelle 8.

Versuch 1.

a) 225 ccm 60° warmes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum	b) 250 ccm 60° warmes Wasser + 10 ccm Sputum	c) 225 ccm kaltes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum
20. II. M. 3769, nach 10′. † 22. III. Meerschweinchenseuche T.B.—	—	20. II. M. 3775, nach 30′. † 2 V. Typischer Tuberkulosebefund.
M. 3770, nach 10′. umgebracht am 17. IX. T. B. —	—	M. 3776, nach 30′. † 10. V. Typischer Tuberkulosebefund.
M. 3771, nach 20′. † 18. III., interkurrent. T. B. —	—	
M. 3772, nach 20′. † 22. III., interkurrent. T. B. —	—	
M. 3773, nach 30′. † 7. III. Meerschweinchenseuche T.B.—	—	
M. 3774, nach 30′. † 18. III. Pneumonie. T. B.— Pneumokokken+.	—	

Versuchsergebnis: Tuberkelbazillenhaltiges Sputum ließ nach 10, 20 und 30′ langer Vorbehandlung mit 60° warmer 10% Antiforminlösung keine virulenten T. B. im Tierversuch mehr nachweisen, während dasselbe Sputum, 30′ mit 10% zimmerwarmer Antiforminlösung vorbehandelt, noch virulente T. B. aufwies. (Beachte die Seuche!)

Versuch 2.

Nach 15′. 20. III. M. 3789. † 27. IV. Meerschweinchenseuche T.B.—	Nach 15′. 20. III. M. 3796. † 22. V. Typischer Tb-Befund.	Nach 15′. 20. III. M. 3799. † 24. V. Typischer Tb-Befund.
M. 3794. † 18. IX., geschlachtet. T. B. —	M. 3797. † 5. VI. Schwere Tb.	M. 3800. † 6. VI. Typischer Tb-Befund.
M. 3795. † 31. V. T. B.— Meerschweinchenseuche T.B.—	M. 3798. † 17. V. Typischer Tb-Befund.	M. 3801. † 29. IV. Typischer Tb-Befund.

Versuchsergebnis: 60° warme 10% Antiforminlösung tötete in allen 3 Fällen T. B. innerhalb 15′ im Sputum ab. 60° warmes Wasser tötete in keinem Falle innerhalb 15′ T. B. im Sputum ab. Eine 10% Antiforminlösung tötete bei Zimmertemperatur innerhalb 15′ T. B. im Sputum nicht ab.

der Meerschweinchenseuche zu kurze Zeit p. inj. eingingen. Anders dagegen waren die Befunde bei den Kontrolltieren, denen die Bodensätze der mit zimmerwarmem 10proz. Antiformin versetzten Sputa injiziert waren; sie gingen größtenteils an einer typischen Impftuberkulose ein.

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

Versuch 3.

a) 225 ccm 60° warmes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.	b) 250 ccm 60° warmes Wasser + 10 ccm Sputum 20′ lang.	c) 225 ccm kaltes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.
25. IV. M. 3851. † 10. V. Sektion o. B. T. B. — Zu früh eingegangen.	25. IV. M. 3854. † 6. VI. Typischer Tb-Befund.	25. IV. M. 3857. † 14. VII. Sektion o. B.
M. 3852. † 22. V. Sektion o. B. T. B. —	M. 3856. † 30. IV. Sektion o. B. Zu früh eingegangen.	M. 3858. † 10. V. Sektion o. B. Zu früh gestorben.
M. 3853. † 18. IX., geschlachtet. T. B. —	M. 3855. † 27. V. Typischer Tb-Befund.	M. 3859. † 31. V. Beiderseits Kniefaltendrüsen vergrößert und verkäst mit positiven T.B.-Befund. Organe frei von T. B.

Versuchsergebnis: 60° warme 10% Antiforminlösung tötete T. B. im Sputum innerhalb 20′ ab. 60° warmes Wasser tötete T. B. im Sputum innerhalb 20′ nicht ab. 10% Antiforminlösung bei Zimmertemperatur tötete in einem Falle (M. 3857) die T. B. im Sputum ab, während in einem anderen Falle (M. 3852) der Tierversuch positiven T. B.-Befund ergab.

Versuch 4.

20′ lang.	20′ lang.	20′ lang.
13. V. **M. 3872.** † 24. IX., geschlachtet. T. B. —	13. V. M. 3880. † 14. V. Meerschweinchenseuche.	13. V. M. 3876. † 26. V. Meerschweinchenseuche T.B.—
M. 3873. † 14. V. Meerschweinchenseuche T.B.— Zu früh eingegangen.	M. 3881. † 19. V. Meerschweinchenseuche.	M. 3877. † 18. V. Meerschweinchenseuche.
M. 3874. † 20. V. Meerschweinchenseuche T.B.—	M. 3882. † 31. V. Sektion o. B.	M. 3878. † 15. VII. Sektion o. B.
M. 3875. † 14. V. Meerschweinchenseuche T.B.—	M. 3883. † 31. V. Meerschweinchenseuche.	M. 3879. † 2. VI. Sektion o. B.

Versuchsergebnis: Kaum verwertbar, da 8 der gespritzten Tiere bald nach der Injektion an Meerschweinchenseuche eingingen. Nur bei dem M. 3872 ergab der Versuch, daß eine 10% Antiforminlösung von 60° C. ausgereicht hatte, um die T. B. im Sputum innerhalb 20′ abzutöten, sodaß der Tierversuch den Nachweis der T. B. nicht mehr erbrachte.

Diese Beobachtungen legten den Gedanken nahe, die Temperaturgrenze festzustellen, bis zu welcher eine Abtötung der Sputumtuberkelbazillen in 10proz. Antiforminlösungen innerhalb verhältnismäßig kurzer Zeit mit Sicherheit erfolgte.

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

Versuch 5.

a) 225 ccm 60° warmes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.	b) 250 ccm 60° warmes Wasser + 10 ccm Sputum 20′ lang.	c) 225 ccm kaltes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.
24. V. M. 3906. † 30. V. Sektion o. B. T. B. —	24. V. M. 3910. † 2. VI. Sektion o. B.	24. V. M. 3914. † 18. IX., geschlachtet. Sektion o. B.
M. 3907. † 15. VI. Sektion o. B. T. B. —	M. 3911. † 25. VI. Typischer Tb-Befund.	M. 3915. † 28. V. Meerschweinchenseuche.
M. 3908. † 30. V. Sektion o. B. T. B. —	M. 3912. † 13. IX. Sektion o. B. T. B. —	M. 3916. † 10. VI. Sektion o. B.
M. 3909. † 15. IX., geschlachtet. T. B. —	M. 3913. † 28. V. Sektion o. B.	M. 3917. † 27. V. Pneumonie des linken Unterlappens.

Versuchsergebnis: getrübt durch den vorzeitigen Tod von 7 Versuchstieren ohne jeglichen pathologischen Befund bei der Sektion. In einem Falle (M. 3909) ließ der Tierversuch erkennen, daß 60° warmes 10% Antiformin die T. B. im Sputum abgetötet hatte, wohingegen in einem anderen Falle 60° warmes Wasser die Sputum-T. B. nicht abtötete. In einem 3. Falle (M. 3914) hatte eine zimmerwarme 10% Antiforminlösung ausgereicht, um die T. B. im Sputum innerhalb 20′ abzutöten (M. 3914).

Versuch 6.

25′ lang.	25′ lang.	25′ lang.
6. VI. M. 3972. † 24. VI. Sektion o. B. T. B. —	M. 3969. † 9. VII. Typischer Tb-Befund.	M. 3975. † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund.
M. 3973. † umgebracht 8. X. Frei von T. B. —	M. 3970. † umgebracht 8. X. Typischer Tb-Befund.	M. 3976. † 7. VII. Sektion o. B.
M. 3974. † 17. VII. Sektion o. B. T. B. —	M. 3971. † umgebr. 8. X. Drüßen r. vergr. und verkäst. T. B. +	M. 3977. † 26. VI. Sektion o. B.

Versuchsergebnis: einwandsfrei, 60° warme 10% Antiforminlösung tötete innerhalb 25′ die Sputum T. B. ab. 60° warmes Wasser hat die T. B. im Sputum innerhalb 25′ nicht abgetötet. Zimmerwarme 10% Antiforminlösung hat bei einem Tier (M. 3975) noch virulente T. B. nachweisen lassen, während bei einem 2. Tier (M. 3976) der T. B. Nachweis nicht mehr gelang, das 3. Tier war schon 20 Tage nach der Injektion eingegangen, bei dem der T. B. Nachweis gleichfalls negativ ausfiel.

Tabelle 8. (Fortsetzung.)

Versuch 7.

a) 225 ccm 60° warwes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.	b) 250 ccm 60° warmes Wasser · 10 ccm Sputum 20′ lang.	c) 225 ccm kaltes Wasser + 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 20′ lang.
4. VII. **M. 70.** † 7. X. umgebracht T.B.—	4. VII. M. 67. † 7. X. Typischer Tb-Befund. T. B. +	4. VII. M. 73. † 7. X., umgebracht. Sektion o. B. T. B. —
M. 71. † 29. VII. Sektion o. B. T. B. —	M. 68. † 4. VIII. Tb-Befund. In Leber und Milz T. B. +	M. 74. † 7. X., umgebracht. Sektion o. B. T. B. —
M. 78. † 7. X., umgebracht T.B.—	M. 69. † 7. X., umgebracht. Typischer Tb-Befund. In Lungen, Leber, Milz T. B. +	M. 75. † 7. X., umgebracht. Sektion o. B. T. B. —

Versuchsergebnis: Eine 60° warme 10% Antiforminlösung reichte aus, um innerhalb 20′ die T. B. im Sputum abzutöten. Tierversuche alle negativ (M. 70, 71, 72.) 60° warmes Wasser tötete die T. B. nicht ab. Tierversuche alle positiv (M. 67. 68, 69.) Eine zimmerwarme 10% Antiforminlösung tötete innerhalb 20′ die T. B. im Sputum ab. T. B. waren im Tierversuch nicht mehr nachweisbar (M. 73, 74, 75.)

Wie aus der Tabelle 9 hervorgeht, war bei Verwendung von 50° warmen 10proz. Antiforminlösungen eine Abtötung der T.B. in allen Versuchen in 30 Minuten erfolgt[1]), wenigstens ließen sich solche vermittels Tierimpfungen nicht mehr nachweisen. Dagegen konnten, wie aus Tabelle 10 zu ersehen ist, bei Verwendung 45° warmen 10proz. Antiformins in der 1. Versuchsreihe einmal noch ganz vereinzelte, virulente T.B. in der r. Kniefaltendrüse eines Tieres festgestellt werden, während die beiden anderen Tiere, die mit demselben Sputumbodensatz gespritzt und erst 3½ Monate p. inj. geschlachtet waren, keinerlei tuberkulöse Krankheitsformen und T.B. aufzuweisen hatten. Die Kontrolltiere waren alle tuberkulös erkrankt.

Unsere Versuche hatten somit gezeigt, daß 250 ccm 50 bis 60° warmer 10proz. Antiforminlösungen in allen Fällen ausgereicht haben, um die Tuberkelbazillen in 10 ccm Sputum innerhalb von 20—30 Minuten mit Sicherheit abzutöten.

Diese Ergebnisse sind besonders deshalb interessant, weil es selbst mit starken Antiforminlösungen und längerer Einwirkungszeit bis zu 10 und 12 Stunden nicht gelingt, T.B. im Sputum bei gewöhnlicher Temperatur abzutöten.

Dieselben günstigen Abtötungsergebnisse bekamen wir einige Male auch bei praktischen Versuchen mit etappenweisem Zusatz von Sputum, wenn wir in Spucknäpfe, die auf elektrischem Wege auf ca. 63° gehalten

[1]) Auch in 50° warmen Antiforminlösungen waren Kulturaufschwemmungen von T.B. schon nach 15 Minuten abgetötet; in 50° warmem Wasser gelang die Abtötung in 15 Minuten nicht. (Tabelle 9 Versuch 2.)

Tabelle 9.

Versuch I.

a) 225 ccm 50° warmes Wasser + 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 30′ lang	b) 250 ccm 50° warmes Wasser + 10 ccm Sputum 30′ lang
12. IX.	12. IX.
M. 4108, bis 20. VII. überlebt glatt und dann zu Syphilisversuchen genommen.	M. 4111. † 25. XI. Sehr schwere Tuberkulose. T. B. + in verkäster Sternaldrüse.
M. 4109. † 29. X. 1920. Keine Tuberkulose.	M. 4112. † 5. XI. Tuberkulose, nur in Drüsen T. B. +.
M. 4110. † 7. V. Drüse links?, sonst glatt T. B. nicht nachweisbar.	M. 4113. † 15. XII. Schwere Tuberkulose T. B. +

Versuch 2.

Versuch mit Reinkultur.

12. IX. 5 mgr Typ.-hum. T. B. »115« + 9 ccm Aq. dest. 50°C. + 1 ccm Antiformin 15′ lang	12. IX. 5 mgr Typ.-hum. T. B. »115« + 10 ccm Aq. dest. 50°C. 15′ lang
12. IX.	12. IX.
M. 4104. † 17. V. T. B. —. Tier war mit Weil infiziert.	M. 4105. † 20. XII. Typische Tuberkulose T. B. +.
M. 3965. † 23. VIII. In Drüse und Milz T. B. +. (Tier war mit Weil geimpft.)	M. 4106. † 29. VII. Schwere Tuberkulose T. B. +.
M. 3966. † 19. XII. 1919. Keine Spur von Tub. Keine T. B.	M. 4107. † 16. II. Allgemeine Tuberkulose T. B. +.

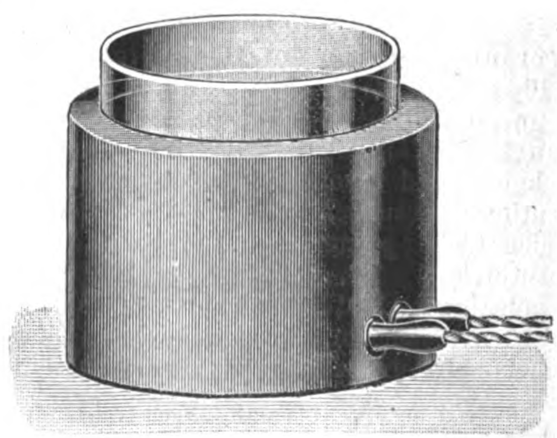


Fig. 1.

Tabelle 10.

Versuch 1.

a) 225 ccm 45° warmes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 30′ lang	b) 250 ccm 45° warmes Wasser + 10 ccm Sputum 30′ lang	c) 225 ccm kaltes Wasser 25 ccm Antiformin + 10 ccm Sputum 30′ lang
19. VI. M. 3987. † umgebracht 7. X. T. B. —.	19. VI. M. 3990. † 4. VII. Meerschweinchenseuche.	19. VI. M. 3993. † 7. X. Typischer Tb-Befund T. B. +.
M. 3988. † 13. VIII. 2 vereinzelte T. B. in der Drüse. Pneumonie rechts.	M. 3991. † 8. VII. Meerschweinchenseuche. In Drüse und Milz T. B. +.	M. 3994. † 7. X. umgebracht. Typischer Tb-Befund T. B. +.
M. 3489. † umgebracht 7. X. T. B. —.	M. 3992. † 28. VIII. Typischer Tb-Befund.	M. 3995. † 7. IX. umgebracht. Linke Drüse T. B. +. Pleuritis sin. mit Käseherd. T. B. +.

Versuchsergebnis: 45° warmes Wasser tötete T. B. im Sputum innerhalb 30′ nicht ab. 45° warme 10% Antiforminlösung ließ nach 30′ langer Einwirkungszeit T. B. im Sputum im Tierversuch in einem Falle (M. 3988) noch nachweisen, während bei 2 weiteren Fällen (M. 3987, 3989,) die T. B. innerhalb 30′ abgetötet waren. Zimmerwarme 10% Antiforminlösung tötete innerhalb 30′ die T.B. im Sputum nicht ab.

Versuch 2.

30′ lang.	30′ lang.	30′ lang.
27. IX. M. 4161. † 27. III. getötet, keine Spur von Tb.	27. IX. M. 4164. † 5. XII. schwere Tuberkulose aller Organe. T. B. +.	27. IX.
M. 4162. † 1. VI. glatt, keine Spur von Tuberlulose.	M. 4165. † 31. XII. schwere Tuberkulose. In Lunge und Milz zahlreiche T. B.	
M. 4163. † 21. V. keine Spur von Tuberkulose.	M. 4166. † 29. XII. schwere Tuberkulose aller Organe und Drüsen. In Lunge, Leber Milz T. B. +.	

werden konnten (s. Abb. 1), 500 ccm 10proz. Antiforminlösung einfüllten und in bestimmten Zeitabständen kleinere Sputummengen — insgesamt 50—55 ccm — zusetzten und nach der letzten Zugabe die Desinfektionsflüssigkeit noch $3/4$—2 Stunden einwirken ließen (s. Tabelle 11). Während nämlich die Kontrollen mit kaltem Antiformin an typischer Tbc. eingingen, war dieses nicht der Fall bei den anderen Tieren, die mit den Bodensätzen von mit warmem Antiformin vorbehandeltem Sputum gespritzt waren. In einem weiteren Versuche (Tabelle 12) dagegen konnten wir hierbei

Tabelle 11.

Etappenversuche.

Versuch I. 22. X. 1919.

500 ccm 10 % Antiforminlösung werden bei 63° mit Sputum beschickt.
um $12\,h^{15}$ — 20 ccm Sputum, nach 5′ totale Lösung
um $12\,h^{20}$ — 15 ccm Sputum, nach 20′ alles gelöst
um $1\,h^{40}$ — 10 ccm Sputum, nach 1 h alles gelöst
um $2\,h^{50}$ — 10 ccm Sputum, nach 50′ alles gelöst
um 4 h wird der Temperaturkontakt ausgeschaltet,
am 23. X. morgens 10 h Temperaturkontakt wieder eingeschaltet,
um $11\,h^{15}$ — 10 ccm Sputum zugesetzt, die nach $1^1/_2$ St. homogenisiert sind,
um $1\,h^{15}$ — (nach 2 h) wird Gesamtflüssigkeit abzentrifugiert und Bodensatz 3× gewaschen mit physiologischer NaCl-Lösung.

M. 4265.	M. 4266.	M. 4267.
† 7. V. 1920. Keine Spur von Tuberkulose. (Zu Weil-Versuchen benutzt)	Überlebt. Hat gar keine Zeichen tuberkulöser Erkrankung erkennen lassen.	† 13. XII. Keine Tuberkulose. Drüsen negativ, keine Tuberkelbazillen.

Kontrolle: 10 ccm Sputum werden mit 10 % Antiformin verdaut, sodann abzentrifugiert und 3 mal mit NaCl. gewaschen. Bodensatz s. e. gespritzt.
M. 4268, † 1. XI. Pneumonie sonst o. B.

Versuch 2. 24. X. 1919.

500 ccm 10 % Antiformin bei 63° werden mit 50 ccm Sputum in Intervallen beschickt, $10\,h^{35}$ — 10 ccm, $11\,h^{30}$ — 10 ccm, $11\,h^{45}$ — 10 ccm, $12\,h^{20}$ — 12 ccm, $12\,h^{40}$ — 8 ccm. Um $1\,h^{20}$ (40′ später) ist alles gelöst und wird $^1/_2$ St. zentrifugiert und Bodensatz 3 mal mit physiolog NaCl-Lösung gewaschen und Meerschweinchen s. c. injiziert.

M. 4269.	M. 4270.	M. 4271.
† 29. V. Keine Spur von Tuberkulose.	† 31. V. Keine Spur von Tuberkulose.	† 18. XII. interkurrent o. B. Keine Spur von Tuberkulose.

Kontrolle: 10 ccm desselben Sputums mit 25 ccm Antiformin verdaut und abzentrifugiert.

M. 4272.	M. 4273.
† 27. X. Tier scheint schon 1919 anderwärts im Versuch gewesen zu sein.	† 11. XII 1919. Tb. der Lungen, Leber und Milz. T. B. +.

schon einen Mißerfolg konstatieren, indem nämlich das Desinfiziens allerdings in der kürzeren Zeit $^1/_2$ Stunde nach der letzten Sputumzugabe die T.B. noch nicht abgetötet hatte.

Als wir aber nun daran gingen, diese Desinfektionsversuche mit warmen Lösungen in Spuckflaschen anzustellen, wo man wie in der Praxis mit kleineren Mengen Desinfektionsflüssigkeit verhältnismäßig viel größere Sputummengen desinfizieren mußte, zeigte es sich, daß hierzu auch die 60° warmen 10 proz. Antiforminlösungen nicht ausreichten. Wie aus den Tabellen 13—16 hervorgeht, wurden die Spuckflaschen vor Versuchsbeginn zur Hälfte mit 10 proz. Antiforminlösung gefüllt und dann entweder im Wasserbad bei 60° oder in besonders konstruierten, nach außen gut abgedichteten und mit japanischer Heizkohle auf 60—70° erwärmbaren

Tabelle 12. Vergleichende praktische Versuche bei 60° mit 10% Antiformin, Wasser und 5% K-Lysol.[1]) 29. und 30. XI. 1919.

I-VI.	I. 500 ccm 10% Antiformin 57—60°	II. 500 ccm 60° Wass. 57—60°	III. 500 ccm 5% K-Lysol 57—60°	IV. 500 ccm 10% Antiformin, kalt	V. 500 ccm Wasser, kalt	VI. 100 ccm 5% K-Lysol, kalt
500 ccm Desinf.-Fl. + 10 ccm Sput. 11^{30} + 10 ccm „ 11^{37} + 10 ccm „ 11^{53} + 10 ccm „ 12^{33} + 10 ccm „ 1^{03}	+ 50 ccm Sput.	+ 50 ccm Sput.	+ 50 ccm Sput.	+ 50 ccm Sput.	+ 50 ccm Sput.	+ 50 ccm Sput.
50 ccm Sput. 1^{33} abgenommen nach letztem Sputumzusatz ½ St. Einwirkungszeit, abzentrifugiert und 2× gewaschen	50 ccm um 1^{33} abgenommen und zentrifugiert und 2× gewaschen, je 2,0 v. Bodens. s. c.	50 ccm um 1^{33} abgenommen wie I. je 2,0 Bodensatz s. c.	50 ccm um 1^{33} abgenommen wie I. je 2,0 Bodensatz s. c.	50 ccm um 1^{33} abgenommen wie I. je 2,0 Bodensatz s. c.	50 ccm um 1^{33} abgenommen wie I. je 2,0 ccm s. c.	50 ccm um 1^{33} abgenommen wie I. je 2,0 ccm s. c.
Der Versuch wird m. den übrig gebliebenen Flüssigkeits- und Sputummengen fortgesetzt bis zum folgenden Tage und dann weitere je 50 ccm entnommen und abzentrifugiert und 2× gewaschen je 2 ccm s. c. gespritzt	M. 4334. † 2. VI. Tuberkul. T. B + Milz, Lunge, Drüse	M. 4326. † 12. XII. 1914	M. 4330. † 27. VII. n. Weil Keine Tuberkulose. In Drüse und Milz T. B. —	M. 4336. † 9. XII. Pneumonia	M. 4328. † 8. XII. Organe aufgefressen	M. 4332. † 15. XII. 1919 o. B.
	M. 4334. † 22. III. Tuberkul. In Milz T. B. +	M. 4327. † 10. XII. 1919	M. 4331. † 8. VI. Keine Spur von Tuberkulose	M. 4337. † 2. II. Tuberk. d. Milz Leber, Lunge T. B. +	M. 4329. † 3. XII. Sepsis	M. 4333. † 18. V. n. Weil. Keine Spur von Tuberkulose
	24 St. später je 2 ccm Bodensatz s. c.	24 St. später je 2 ccm Bodensatz s. c.	24 St. später je 2 ccm Bodensatz s. c.	24 St. später je 2 ccm Bodensatz s. c.	24 St. später je 2 ccm s. c.	24 St. später je 2 ccm s. c.
	M. 4338. † 5. XII. Pseudotbc.	M. 4344. † 5. XII. 1919 Sepsis		M. 4341. † 5. XII. 1919	M. 4347. † 3. XII. 1919	M. 4350 † 17. V. Keine Spur v. Tuberkulose
	M. 4339. † 21. I. o. B.	M. 4345. † 18. II. Tuberkul. In Drüsen T. B. †	M. 4354. † 1. XII. Lysolvergiftung	M. 4342. † 2. II. Tuberkul. in Milz T. B. +	M. 4348. † 2. XII. 1919 ?	M. 4351. † 17. V. n. Weil Keine Spur v. Tubk.
	M. 4340. † 7. VI. Tuberkulose In Lunge und Milz T. B. +	M. 4346. † 15. XII. 1919	M. 4355. gesund geblieben, überlebt	M. 4343. † 26. I. Schwere Tuberkulose T. B. +	M. 4349. † 5. XII. 1919 Sepsis	M. 4352. † 13. XII. intercurr.

1) Über die auch in deu folgenden Tabellen miterwähnten Versuche mit K-Lysol wird in einer späteren Mitteilung ausführlich die Rede sein.

Tabelle 13.

Versuche in Spuckflaschen, die bei 60° im Wasserbad gehalten werden.
18. XI. 1919.

I. 50 ccm 10 % Antiformin (68)	II. 50 ccm 60° warmes Wasser	III. 50 ccm kaltes Wasser.
+ 5 ccm Sputum 10^{35} + 5 ccm » 10^{40} + 5 ccm » 11^{10} + 5 ccm » 11^{25} + 5 ccm » 11^{50}	+ 25 ccm Sputum wie I.	+ 25 ccm Sputum wie I.
40 Min. später 12^{20} Versuchsschluß. Abzentrifugiert u. 3 × mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c.	Behandlung wie I.	Behandlung wie I.
M. 3. † 15. III. Schwere Tuberkulose aller Organe und Drüsen. T. B. +	M. 1. † 2. I. 1920. Typischer Tuberkulosebefund in Lungen, Leber, Milz u. Drüsen. T. B. +	M. 4. † 13. I. Tuberkulose aller Organe u. Drüsen T. B. +
M. 2. † 13. I. Starke Tuberkulose der Organe und Drüsen. T. B. +	M. 5. † 30. XII. Schwere Tuberkulose der Lungen, Leber u. Milz T. B. +	M. 7. † 8. I. Schwere Tuberkulose. T. B. +
M. 6. † 8. I. Ausgesprochene Tbc. der Lungen, Leber, Milz u. Drüsen. T. B. +	M. 8. † 13. I. Tuberkulose der Lungen, Leber, Milz u. Drüsen. T. B. +	M. 9. † 13. I. Schwere Tuberkulose. T. B. +

Tabelle 14.

Spuckflaschenversuch bei 60°.
22. XI. 1919.

I. 50 ccm 10 % Antiformin (60°)	II. 50 ccm 10 % Antiformin
+ 5 ccm Sputum 10^{25} + 5 ccm » 10^{45} + 5 ccm » 11^{10} + 5 ccm » 12^{00} + 5 ccm » 12^{40} } stark positives Sputum	+ 25 ccm Sputum wie I.
Über Mittag stehen gelassen von 4^{10}—38° Versuchsschluß 6 h. 5^{00}—60° Zentrifugiert u. 3 × gewaschen, je 2 ccm s. c. 6^{00}—60°	Behandlung wie I.
M. 11. † 20. III. 1920. Sektion o. B. T. B. —	M. 10. † 26. XII. Keine Tuberkulose. T. B. —
M. 12. † 19. II. 1920. Sektion o. B. T. B. —	M. 14. † 16. III. Sektion o. B. Keine T. B. —
M. 13. † 15. III. An Gärtner-Stallseuche T. B. —	M. 15. † 26. I. Alle Organe o. B. T. B. —

Tabelle 15.

Versuche mit erwärmter Spuckflasche u. 10% Antiformin.
30. XI. 1919.

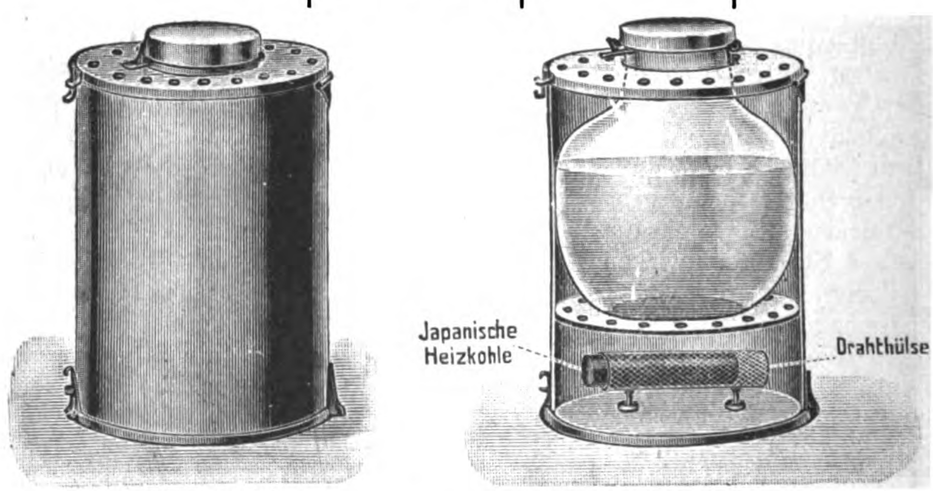
Zeit	Temperatur	50 ccm 10% Antiformin um 9^{38} eingefüllt.	Die ganze Sputummenge wird abzentrifugiert und 2 × gewaschen mit physiol. NaCl-Lösung.
9^{40}	40°	5 ccm Sputum zugesetzt.	M. 4356.
9^{55}	50°	5 ccm Sputum	† 18. II. 1920. Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz und Drüsen. T. B. + in Lungen und Drüsen.
9^{57}	51°	5 ccm Sputum	
10^{04}	59°		
10^{13}	60°		
10^{16}	62°	5 ccm Sputum	
10^{25}	62°		M. 4357.
10^{31}		5 ccm Sputum	† 7. XII. Sektion nicht ausgeführt.
10^{35}	53,5°		
10^{40}	55°		
10^{43}	63°		
10^{45}	69°		
10^{51}	75°		
10^{56}	75°		
10^{57}		5 ccm Sputum	
10^{58}	72°		
11^{06}	78°		
11^{27}	74°		
11^{30}		Versuchsschluß.	

Taschenspuckflaschen (s. Abb. 2) gehalten. Dann wurden sie in bestimmten Zeitabständen mit je 5 ccm Sputum, insgesamt mit 25—30 ccm beschickt. Wirkten nun diese warmen 10proz. Antiforminlösungen noch ca. ¾ Stunden nach der letzten Sputumzugabe ein (Tabelle 13 und 15), so waren die T.B. im Sputum ebenso wie in den Kontrollen mit 60° warmem Wasser allein noch nicht abgetötet im Gegensatz zu den früheren Versuchsergebnissen, wo bei 250 ccm 50—60° warmem 10proz. Antiformin und 10 ccm Sputumzusatz eine Abtötung der T.B. schon nach 15—30 Minuten erfolgt war.

Der Unterschied in diesen Versuchsergebnissen ist auf die verschiedene Versuchsanordnung zurückzuführen, indem nämlich bei diesen Spuckflaschenversuchen viel weniger Desinfektionsflüssigkeit und im Verhältnis dazu vielmehr Sputum zugesetzt wurde. Während wir bei den ersten günstigen Versuchsergebnissen (siehe Tabelle 7—9) auf 10 ccm Sputum 250 ccm Antiforminlösung — also auf 1 Teil Sputum 25 Teile Antif. — 10′—1 Stunde einwirken ließen und eine Abtötung erreichen konnten, war dieses bei den späteren Versuchen, die in den Tabellen 17—24 zusammengestellt, zum Teil in kleinerenMengen in zugeschmolzenen Röhren unter Wasser untergetaucht vorgenommen und bis zu 1 Stunde ausgedehnt worden sind, keineswegs der Fall. Es war eben die zugesetzte Sputummenge größer gewählt und schwankte zwischen gleichen Teilen Sputum und Desinfiziens einerseits und 1 Teil Sputum und 12 Teilen Desinfiziens andererseits bei Einwirkungszeiten bis zu 1 Stunde. Nur in einem einzigen Versuche, und zwar bei 8 ccm Sputum und 100 ccm

Tabelle 16. 22. XI. 1919.

50 ccm Desinfektionsflüssigkeit + 10 ccm Sputum Beginn 10 h^{20}	I. 50 ccm 10% Antiform., warm + 10 ccm Sput.	II. 50 ccm 15% KOH, warm + 10 ccm Sput.	III. 50 ccm 15% KOH Zimmertemperatur + 10 ccm Sput.
10 h^{40} — 36°			
10 h^{47} — 40°			
10 h^{50} — 5 ccm Sputum			
11 h^{05} — 60°			
11 h^{12} — 58°			
11 h^{15} — 5 ccm Sputum			
11 h^{30} — 58°			
11 h^{50} — 5 ccm Sputum	Temper. u. Sputumzus. (staffelweise) wie i. 1. Kolonne		
12 h^{10} — 68°			
12 h^{25} — 65°			
1 h — 60°			
4 h — 62°			
4 h^{05} — 5 ccm Sputum			
4 h^{10} — 63°			
5 h — 56°			
5 h^{45} — 55°			
Versuchsschluß.	Je 2 ccm Bodensatz s. c.	Je 2 ccm s. c.	Je 2 ccm s. c.
20′ zentrifugiert u. 3× gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	M 48. † 9. II. Stallseuche. Keine T. B.	M 47. † 2. I. Seuche.	M 62. † 10. I. Seuche.
	M 49. † 5. I. Stallseuche.	M 51. † 26. XII. Seuche.	M 63. † 5. I. Seuche.
	M 50. † 6. II. Stallseuche. Keine Spur v. Tuber-	M 52. † 27. I. Seuche. Keine Tuberkul.	M 64. † 8. III. Tbc. der Lungen u. Drüsen. T. B. +.



a) äußere Ansicht. b) Längsschnitt.

Fig. 2.

Tabelle 17.

9. I. 20.
Versuche bei 50°.

I. 100 ccm 10% Antiformin 50° + 8 ccm Sputum	II. 100 ccm 3% K-Lysol 50°*) + 8 ccm Sputum	III. 100 ccm 5% Carbol 50° + 8 ccm Sputum	IV. Kontrolle. 5% Antiformin + 8 ccm Sputum
Einwirkungszeit 1/2 St.	Einwirkungszeit 1/2 St.	Einwirkungszeit 1/2 St.	bis aufgelöst.
Zentrifugiert u. 2 × gewaschen mit je 2 ccm. Bodensatz s. c. gespritzt.	Zentrifugiert u. 2 × gewaschen mit je 2 ccm. Bodensatz 2. c. gespritzt.	Zentrifugiert u. 2 × gewaschen mit je 2 ccm. Bodensatz s. c. gespritzt.	Zentrifugiert u. 2 × gewaschen mit je 2 ccm. Bodensatz s. c. gespritzt.
M. 4543. überlebt.	M. 4545. verhungert. † 2. III. Vollkommen gesund, keine Tuberkulose.	M. 4547. † 16. II. Pneumonie keine Tuberkelbazillen.	M. 4549. † 25. V. Tuberkulose. T. B. +
M. 4544. † 18. III., o. B. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4546. † 6. IX. Keine Tuberkulose.	M. 4548. † 27. VI. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4550. † 11. III. Schwere Tuberkulose. Lungen, Leber, Milz, Drüsen. T. B. +

Tabelle 18.

Versuche bei 60° mit 10% Antiformin, K-Lysol, Natronlauge.
22. I. 1920.

I. 100 ccm 10% Antiformin + 25 ccm Sputum	II. 100 ccm 10% Antiformin + 25 ccm Sputum	III. 100 ccm 3% K-Lysol + 10 ccm Sputum	IV. 100 ccm 1% NaOH. + 10 ccm Sputum
Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.
Zähflüssig, nicht gelöst. Abzentrifugiert u. 2 + gewaschen.	Noch sehr zähflüssig. Behandlung wie bei I.	Behandlung wie bei I.	Behandlung wie I.
Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.
M. 4559. † 28. V. Schwere Tuberkulose T. B. +	M. 4561. † 26. VI. Keine Tuberkulose.	M. 4563. † 24. II., o. B.	M. 4565. † 7. II. Pneumonie. In Drüsen T. B. +
M. 4560. † 11. VI. Tuberkulose. In Drüsen T. B. +	M. 4562. † 1. VII. Keine Tuberkulose.	M. 4564. † 4. IX. Keine Tuberkulose.	M. 4566. † 18. II. Leichte Drüsenschwellung T. B. +

50° warmem 10proz. Antiformin — 1 Stunde lang — war eine Abtötung der T.B. erfolgt, während die Desinfektion in allen anderen versagte (siehe Tabelle 17). Auch Versuche, mit stärkeren Konzentrationen bis zu 30 und 50proz. 60° warmen Antiforminlösungen zum Ziele zu kommen, schlugen fehl (s. Tabelle 24). Derartige konzentrierte Antiforminlösungen sind auch schon an und für sich wegen ihrer stark ätzenden Wirkung und ihres hohen Preises wegen für die Desinfektion in der Praxis nicht geeignet.

*) Die hier und im folgenden mitaufgeführten Versuche mit K-Lysol, F-Lysol, Carbol werden in einer späteren Mitteilung näher besprochen.

Tabelle 19.
Versuche bei 60°.
5. II. 1920.

I. 100 ccm 10 % Antiformin (T. B. +) + 25 ccm Sputum	II. 100 ccm 3 % K-Lysol + 25 ccm Sputum	III. 100 ccm 3 % K-Lysol, kalt, + 25 ccm Sputum	IV. 100 ccm 10 % Antiformin, kalt, + 25 ccm Sputum
Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.
Noch fadenziehend. Abzentrifugiert u. 2 × gewaschen.	Behandlung wie bei I.	Behandlung wie bei I.	Behandlung wie bei I.
Je 2 ccm Bodensatz s. c. injiziert.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. injiziert.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. injiziert.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. injiziert.
M. 4567. † 4. VI. Tuberkulose der Drüsen u. Milz. In Lungen T. B. +	M. 4569. † 2. VIII. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4571. † 18. II., o. B.	M. 4573. † 25. III. Tuberkulose der Lunge, Milz u. Drüsen. T. B. in Lunge, Milz u. Drüsen +.
M. 4568. † 3. V. Schwere Tuberkulose. T. B. +	M. 4570. † 4. VIII. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4572. † 1. X., getötet. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4574. † 28. IV. Schwere Tuberkulose T. B. in Lunge, Leber, Milz u. Drüsen +.

Tabelle 20.
Versuche bei 63°.
10. II. 1920.

I. 10 ccm 10 % Antiformin + 2,5 ccm Sputum	II. 10 ccm 3% K-Lysol + 2,5 ccm Sputum	III. 10 ccm Wasser + 2,5 ccm Sputum	IV. 10 ccm 3% K-Lysol kalt. + 2,5 ccm Sputum
Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.
Halb homogenisiert. Zentrifugiert u. 2 × gewaschen.	Behandlung wie bei I.	Einzelne Ballen herausgefischt.	Behandlung wie bei I.
Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.
M. 4583. † 1. X. Keine Spur von Tbc.	M. 4585. † 16. II. Pseudotuberkulose.	M. 4589. † 12. II., o. B.	M. 4587. † 11. II., o. B.
M. 4584. † 11. II., o. B.	M. 4586. † 1. X. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4590. † 9. III. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 4588. † 12. II., o. B.

Da bekanntlich die gute homogenisierende Wirkung des Antiformins auf dem Zusammenwirken von Hypochlorit und Alkali beruht, so versuchten wir, ob nicht mit Alkalien allein bei Verwendung warmer Lösungen eine Abtötung der Sputumtuberkelbazillen zu erreichen wäre. Herangezogen wurden frisch bereitete 1—15proz. Natron- und Kalilaugenlösungen, die gleichfalls zunächst in derselben großen Menge (250—500 ccm) auf 10 ccm Sputum 30′—1 Stunde lang bei 37—60° einwirkten; ebenso wurden dann auch weitere Versuchsreihen mit weniger Desinfiziens und mehr Sputum

Tabelle 21.
Versuche mit 10% Antiformin 60°.
17. II. 1920.

I. 100 ccm 10% Antiformin 60° + 50 ccm Sputum	II. 100 ccm 10% Antiformin 60° + 50 ccm Sputum	III. 100 ccm 10% Antiformin 60° + 10 ccm Sputum
1 St. Einwirkungszeit. Abzentrifugiert und 2× gewaschen. Je 2 ccm Bodens. s. c.	1 St. Einwirkungszeit. Behandlung wie I.	8 Min. später 10 ccm Sputum. 35 Min. später 10 ccm Sputum. 50 Min. später 10 ccm Sputum. 60 Min. später 10 ccm Sputum. Darauf noch 1 St. Einwirkungsd. Abzentrifugiert u. 3× gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c.
M. 85. † p. inj.	M. 88. † 23. III. Stallseuche.	M. 91. † 13. III. Sektion o. B. Seuche. T. B. —
M. 86. † 10. III. Sektion o. B. Seuche. T. B. —	M. 89. † 22. IV. Tuberkulose T. B. +	M. 92. † 19. III. Sektion o. B. Seuche.
M. 87. † 10. III. Sektion o. B. Seuche. T. B. —	M. 90. † 15. III. Seuche In Drüse. T .B. + ?	M. 93. † 23. IV. Tuberkulose (Typ.-Bef.) T. B. +

angesetzt und zu beiden Serien Kontrollen bei Zimmertemperatur.

Wie man aus den beigegebenen Versuchsprotokollen (s. Tabelle 25 bis 32) ersieht, waren hierbei die Versuchsergebnisse wesentlich schlechtere als wie in den früheren Reihen mit dem warmen 10proz. Antiformin; selbst bei Verwendung von großen Mengen von 10 und 15% NaOH oder KOH und nur 10 ccm Sputumzusatz bei 60° — 1 Stunde lang — war eine Abtötung der T.B. nicht festzustellen, während dieses beim 10proz. 60° warmen Antiformin sogar schon bei 20—30′ langer Einwirkungszeit der Fall war.

Tabelle 22.
Versuche bei 60°
2. III. 1920.

I. 10 ccm 3% K-Lysol + 2,5 ccm Sputum	II. 10 ccm 3‰ K-Lysol, Zimmertemperatur + 2,5 ccm Sputum	III. 10 ccm 10% Antiformin + 2,5 ccm Sput.	IV. 10 ccm 10% Antif. (kalt) + 2,5 ccm Sput.
Einwirkungszeit 1 St. In Röhrchen eingeschmolzen unt. Wasser gebracht. Zentrifugiert und 2× mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s.c.	Einwirkungszeit 1 St. Behandlung wie bei I. Je 2 ccm Bodensatz s.c.	1 St. Einwirkungszeit. Behandlung wie bei I. Je 2 ccm Bodensatz s.c.	1 St. Einwirkungszeit. Behandlung wie bei I. Kontrolle. Je 2 ccm Bodensatz s.c.
M. 4610 † 23. III. Pseudotuberk. Diplostäbchen; T. B. —	M. 4612. † 23. VIII. Keine Tuberkulose.	M. 4607. † 23. VIII. Keine Tuberkulose.	M. 4609. † 1. V. schwere Tuberk. der Lunge, Leber, Milz.
M. 4611. † 3. V. Pneumonie Abszess an Inj.-Stelle. Keine T. B.	M. 4613. † 23. VIII. Keine Tuberkulose.	M. 4608. † 1. XII. getötet. Keine Tuberkulose	

Tabelle 23.

Versuche bei 60° (in zu-

I. 10 ccm 3% K-Lysol + 5 ccm Sputum	II. 10 ccm 3% F-Lysol + 5 ccm Sputum	III. 10 ccm 3% Antiformin + 5 ccm Sputum
1 Stunde zentrifugiert und 2× gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	1 Stunde wie I. Je 2 ccm s. c.	1 Stunde wie I. Je 2 ccm s. c.
M. 4620. † 13. X. n. Weil. Keine Tuberkulose.	M. 4624. † 25. X. o. B.	M. 4630. † 29. VII. (n. Weil) Keine Tuberkulose.
M. 4621. † 4. X. getötet. Keine Tuberkulose.	M. 4625. † 15. VII. Keine Tuberkulose.	M. 4631. † 29. 8. getötet. Keine Tuberkulose.

Die gleichen negativen Resultate ergaben Versuche mit 10—20% Salzsäure bei 50 und 60° selbst nach 1—2 stündiger Einwirkung. Mithin waren also sowohl Natron- wie Kalilauge (neben schlechterer Homogenisierung des Sputums) noch weniger zur Sputumdesinfektion geeignet als das Antiformin, das doch immerhin bei Verwendung 50—60° warmer 10proz. Lösungen innerhalb der sehr kurzen Zeit von 20—30′ in Mengen von 250 ccm die T.B. in 10 ccm Sputum mit Sicherheit abtötete.

Die schlechteren Ergebnisse bei der der Praxis entsprechenden Versuchsanordnung, vor allem aber bei etappenweiser Sputumzugabe sind wohl darauf zurückzuführen, daß die oxydierende Wirkung des Hypochlorits bei höherer Temperatur, der das Keimtötungsvermögen gegenüber T.B. in warmen Antiforminlösungen zuzuschreiben sein wird, bei den zuerst zugesetzten Mengen Sputum schon voll zur Geltung kommt, und sich erschöpft, so daß sie dann zur Desinfektion des später zuge-

Tabelle 24.

Versuche bei 60° in zugeschmolzenen Röhren.
31. III. 1920.

I. 10 ccm 50% Antiformin + 10 ccm Sputum	II. 10 ccm 30% Antiformin + 10 ccm Sputum	III. 10 ccm 50% Antiformin, kalt. + 10 cm Sputum	IV. 10 ccm 30% Antiformin, kalt. + 10 ccm Sputum
1 St.	1 St.	1 St.	1 St.
Abzentrifugiert u. 2× mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert etc. Wie I. Je 2 ccm s. c.	Wie I. Je 2 ccm s. c.	Wie I. Je 2 ccm s. c.
M 4633. † 16. IV. Pseudotuberkulose, keine T.B.	M 4637 † 22. IV. Tuberkulose T.B. + in Drüse, Leber, Lunge, Milz.	M 4635. † 14. V. Tuberkulose. In Milz T. B. +	M 4639. † 17. IV. Tuberkulose. In Drüse T. B. +.
M 4634. † 5. VII. Tuberkulose. In Lunge, Leber, Milz und Drüse T.B. +.	M 4638. † 7. V. Interkurrent T. B. +. In Drüsen, Leber, Lunge u. Milz.	M 4636. † 7. VI. Tuberkulose. In Drüs. u. Milz T. B. +.	M 4640. † 7. VI. Tuberkulose. T. B. +. In Leber, Milz und Drüse.

Tabelle 28.

geschmolzenen Röhren) 30. III. 1920.

IV. 10 ccm 3% K-Lysol kalt + 5 ccm Sputum	V. 10 ccm 3% F-Lysol kalt + 5 ccm Sputum	VI. 10 ccm 5% Antiformin kalt + 5 ccm Sputum
1 Stunde wie I. Je 2 ccm s. c.	1 Stunde wie I. Je 2 ccm s. c.	1 Stunde wie I. Je 2 ccm s. c.
M. 4622. † 8. VI. o. B. Keine Tuberkulose.	M. 4626. † 7. VI. In Drüse T. B. + Tuberkulose.	M. 4628. † 11. V. Tuberkulose in Drüse T. B. +
M. 4623. † 29. VIII. o. B.	M. 4627. † 23. IV. o. B.	M. 4629. † 22. VI. schwere Tuberk. In Drüse und Milz. T. B. +

setzten Sputums nicht mehr ausreichen. Das geht auch schon rein äußerlich daraus hervor, daß die Homogenisierung nicht mehr so vollständig erfolgt.

Es fällt also dann auch noch die die Abtötung der T.B. unterstützende homogenisierende Wirkung fort; die später hereingebrachten Sputumballen unterliegen so gewissermaßen nur noch der Wirkung des warmen

(Fortsetzung des Textes S. 327.)

Tabelle 25.

Versuche mit 37° warmer Flüssigkeit.

8. XII. 1919.

I. 250 ccm 10% Antiformin 37° + 10 ccm Sputum Einwirkungszeit 25′	II. 250 ccm 15% KOH 37° + 10 ccm Sputum Einwirkungszeit 25′	III. 250 ccm 10% Antiformin, kalt. + 10 ccm Sputum Einwirkungszeit 25′
Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c.	Behandlung wie I.	Behandlung wie I.
M 19. † 9. II. Tuberkulose der Lungen, Leber, Milz und Drüsen T. B. +.	M 16. † 12. I. 1920. Tuberkulose. T. B. +	M 22. † 14. I. Drüsen bds. geschwollen u. verkäst. Milz stark vergrößert mit Knötchen durchsetzt, ebenso Leber. T. B. +.
M. 20. † 22. III. Sektion o. B.	M 17. † 21. XII. Keine Tuberkul.	M 23. † 16. I. Drüsen geschwoll., Milz vergrößert und von Knötch. durchsetzt, ebenso Leber. T. B. +.
M 21. † 22. IV. Typischer Tb.-befund. T. B. +	M 18. † 31. XII. Leistendrüsen stark vergrößert u. verkäst. Tb-Knötchen in Milz. T. B. +.	M 24. 22. I. Typischer Tb-Befund der Lungen, Leber, Milz, Leistendrüs. T. B. +.

Tabelle 26.

Versuche bei 40°.

13. XII. 1919.

I. 250 ccm 10% Antiformin + 10 ccm Sputum 30 Min. eingewirkt	II. 250 ccm 15% KOH + 10 ccm Sputum . 30′	III. 250 ccm 10% Antiformin. Kalt. + 10 ccm Sputum 30′	IV. 250 ccm 15% KOH Kalt. + 10 ccm Sputum 30′
Abzentrifugiert u. 3× gewaschen. Je 2 ccm s. c.	Behandlung wie I.	Behandlung wie I.	Behandlung wie I.
M 25. † 8. I. Stallseuche.	M 28. † 10. I. Stallseuche. In Milz kleinste Knötchen mit T. B. +.	M 29. † 7. I. Seuche. T. B. —	M 33. † 9. II. Typisch. Tb-Befund. T. B. +.
M 26. † 13. I. Stallseuche. In Drüsen und Milz T. B. +.	M 31. † 15. XII. Seuche.	M 30. † 9. 1. Seuche.	M 34. † 8. I. Tuberkel in Lunge, Leber und Milz. Drüsen bds. verkäst. T. B. +.
M 27. † 14. I. Seuche. In Milz Knötchen mit T. B. +.	M 32. † 15. VII. Seuche.		

Tabelle 27.

2 Versuche bei 45° — 50° — 60° mit demselben Sputum und 15% Kalilauge.

15. XII. 1919. 16. XII. 1919.

I. 250 ccm 15% KOH 45° + 10 ccm Sputum	II. 250 ccm 15% KOH kalt + 10 ccm Sputum	III. 250 ccm 15% KOH 50° + 10 ccm Sputum	IV. 250 ccm 15% KOH 60° + 10 ccm Sputum
½ St. Einwirkungszeit Abzentrifugiert und 3× gewaschen. Je 2 ccm Bodensatz s. c.	½ Stunde Behandlung wie I.	½ Stunde Behandlung wie I.	½ Stunde Behandlung wie I.
M. 35. † 16. XII. Peritonitis.	M. 38. † 15. III. Tuberkulose aller Organe. T. B. +	M. 41. † 19. I. 1920. Leistendrüse etwas geschwoll., sonst o. B. T. B. —	M. 44. † 19. I. o. B. Keine Tuberkulose.
M. 36. † 8. I. Seuche. Keine T. B.	M. 39. † 17. I. Drüsen beiderseits verkäst. T. B. +	M. 42. † 6. I. Keine Spur v. Tuberkulose, Stallseuche.	M. 45. † 8. I. Stallseuche.
M. 37. † 16. XII. Peritonitis.	M. 40. † 10. I. Abszess an Inj.-Stelle, o. B.	M. 43. † 22. I. Knötchen in der Milz, Leistendrüse r. geschw. u. verkäst. T. B. +	M. 46. † 10. II. Sect. o. B. Keine Tuberkulose.

Tabelle 28.

Versuch mit 10% NaOH bei 50°. 19. XII. 1919.

I. 200 ccm 10% NaOH + 10 ccm Sputum	II. 200 ccm 10% Antiformin 50° + 10 ccm Sputum	III. 200 ccm 10% NaOH kalt + 10 ccm Sputum
30 Min. Einwirkungszeit Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm s. c. injiziert.	30 Min. Einwirkungszeit. Behandlung wie I.	30 Min. Einwirkungszeit. Behandlung wie I.
M. 59. † 10. II. Typischer Tuberkulosebefund T. B. +	M. 56. † 17. II. Vereinz. Knötchen i. Leber u. Milz mit T.B. +	M. 53. † 30. I. Tubk. aller Organe. Leistendrüsen vergrössert und verkäst. T. B. +
M. 60. † 21. I. Knötchen in Milz und Leber mit T. B. + Verkäste Leistendrüsen.	M. 57. † 30. XII. Stallseuche.	M. 54. † 23. II. Typischer Tuberkulosebefund. In Drüsen und Organen. T. B. +
M. 61. † 4. I. 1920. Pseudotuberkulose.	M. 58. 21. I. Knötchen in Milz. T. B. — Leistendrüsen o.B.	M. 55. † 17. I. Typischer Tuberkulosebefund T.B. i. Leber, Milz und Lunge. +

Tabelle 29.

Versuche mit Kalilauge.

9. XII. I. 200 ccm 15% KOH (50°) + 15 ccm Sput. T.B. (++)	II. 200 ccm Wasser (50°) + 15 ccm Sput. (T.B. ++)	III. 200 ccm 15% KOH (Zimmertemperatur) + 15 ccm Sput. (T.B. ++)
Einwirkungsdauer 30 Min. Gute Lösung. Alles wird zentrifugiert in Zentrifuge mit 4000 Umdrehungen und 2× mit physiolog. NaCl-Lösung gewaschen. Bodens. s. c. gespritzt.	Einwirkungsdauer 30 Min. Behandlung wie bei I. Bodensatz s. c. injiziert.	Einwirkungsdauer 30 Min. Ziemlich gute Lösung, doch noch fadenziehend. Behandlung wie bei I. Bodensatz s. c. injiziert.
M. 4504. † 19. I. In d. Leistendrüsen T.B. +	M. 4507. † 13. XII. Sepsis.	M. 4501. † 15. XII. Sepsis.
M. 4505. † 15. XII. Sepsis.	M. 4508. † 17. XII. Sepsis.	M. 4502. † 9. II. In Milz u. Leber tub. Veränd. Leistendrüse bohnengross. In Drüsen T.B. +
M. 4506. † 26. III. Schwere Tuberkulose der Lunge, Leber und Milz und der Drüsen. In Lungen T. B. +	M. 4509. † 13. XII. Sepsis.	M. 4503. † 15. XII. Sepsis.

Tabelle 80.

Versuch mit Natronlauge.

10. XII. 200 ccm 10% NaOH (50°) + 20 ccm Sputum (vom 9. XII.)	200 cm 10% NaOH (Zimmertemper.) + 20 ccm Sputum (vom 9. XII.)
Einwirkungsdauer 30 Minuten Gute Lösung. Behandlung wie am 9. XII. Sputum I. Bodensatz s. c. injiziert.	Einwirkungsdauer 30 Minuten. Noch etwas fadenziehend. Behandlung wie am 9. I. Sputum I. Bodensatz s. c. injiziert.
M. 4510. † 15. XII. Sepsis.	M. 4513. † 7. II. Schwere Tuberkulose der Milz, Leber, Lungen und Drüsen, die alle T. B. + enthalten.
M. 4511. † 16. XII. Sepsis.	M. 4514. † 26. III. Schwere Tuberkulose der Lungen, Leber, Milz und Drüsen, die alle T. B. + enthalten.
M. 4512. † 15. XII. Sepsis.	M. 4515. † 26. I. Schwere Tuberkulose der Lungen, Leber, Milz und Drüsen. T. B. +

Tabelle 81.

Versuche mit Natronlauge.

16. XII. 1919. I. 200 ccm 10% NaOH (50°) +25 ccm Sputum	II. 200 ccm 10% Antiformin 50° +25 ccm Sputum	III. Kontrolle. 100 ccm 10% NaOH Zimmertemperatur. +12,5 ccm Sputum
Einwirkungsdauer 30 Min. ziemlich gelöst. Alles wird zentrifugiert und 3× mit physiolog. NaCl gewaschen.	Einwirkungsdauer 30 Min. gut gelöst. Behandlung wie bei I.	Einwirkungsdauer 30 Min. noch fadenziehend. Behandlung wie bei I.
Bodensatz s. c. injiziert.	Bodensatz s. c. injiziert.	Bodensatz s. c. injiziert.
M 4516. † 6. I. 1920. Pneumonie. Leistendrüsen rechts stark geschwoll. in ihnen T. B.+. Ebenso in Lunge.	M 4519. † 28. XII. Sektion o. B.	M 4522. † 2. II. 1920. Tuberkulose der Lungen, Milz u. Drüsen. T. B.+.
M 4517. † 1. II. Tuberkulose der Drüsen, Leber, Milz. In Drüsen und Milz T. B.+.	M 4520. † 30. III. 1920. (Mit Weil-Kultur behandelt). Tuberkeln in Lungen, Milz und Drüsen. In Drüsen T. B.+.	M 4523. † 18. XII. 1919. Interkurrent.
M 4518. † 3. II. 1920. Tuberkulose der Lunge, Leber u. Drüsen. In Leber und Drüsen T. B.+.	M 4521. † 24. II. 1920. Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz. In Lungen, Milz und Drüsen T. B.+.	M 4524. † 9. I. 1920. Eitriger Belag auf der Milz. Drüsen stark geschwollen mit T. B.+.

Tabelle 32.

Versuche mit Natronlauge und Antiformin 50°.

21. I. 1919.

I. 100 ccm 10% Antiformin + 25 ccm Sputum	II. 100 ccm 10% Antiformin + 10 ccm Sputum	III. 100 ccm 1% NaOH + 10 ccm Sputum	IV. Kontrollen. 100 ccm Wasser + 10 ccm Sputum
Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.	Einwirkungszeit 1 St.
Noch fadenziehend u. ungelöste Ballen.	Fadenziehend.	Noch fadenziehend u. Flocken.	Ballen herausgefischt u. s. c.
Abzentrifugiert u. 2× gewaschen.	Behandlung wie bei I.	Behandlung wie bei I.	
Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 2 ccm Bodensatz s. c. gespritzt.	Je 3 ccm gespritzt.
M 4551. † 5. VII. Tuberkulose T. B. + i. Lungen, Leb. und Milz.	M 4553. † 27. II. Erbsengroße verkäste Drüsen. In Milz, Lungen u. Drüsen T. B. +.	M 4555. † 3. V. schwere Tuberkulose. In Lungen T. B. +.	M 4557. † 2. II. o. B.
M 4552. † 27. I. o. B.	M 4554. † 23. I. o. B.	M 4556. † 28. 4. schwere Tuberkul. In Drüsen, Leber, Lunge T. B. +.	M 4558. † 6. V. schwere Tuberkulose. In Lungen, Leber, Milz u. Drüsen T. B. +.

Tabelle 33.

Versuche mit 50° Wasser.

31. XII. 1919.

I. 500 ccm Wasser 50° + 40 ccm Sputum	II. } Dasselbe Gemisch	III. } Dasselbe Gemisch
nach **2 St.** 50 ccm entnommen.	nach **4 St.** weitere 50 ccm entnommen.	nach **6 St.** weitere 50 ccm entnommen.
Abzentrifugiert u. Bodensatz 3× mit NaCl gewaschen. Je 1 ccm Bodensatz s. c.	Behandlung wie I.	Behandlung wie I.
M 74. † 16. I. Seuche.	M 77. † 23. I. Leistendrüsen geschwollen, links verkäst. In Drüsen u. Milz T. B. +.	M 80. † 7. II. Tuberkel in Lungen und Milz. Drüsen geschwollen und verkäst. T. B. +.
M 75. † 7. I. Seuche.	M 78. † 23. I. Knötchen in der Leber. Leistendrüsen geschwollen. In den Drüsen und Milz T. B. +.	M 81. † 7. I. Seuche.
M 76. † 13. I. Seuche.	M 79. † 7. I. Seuche.	

Tabelle 34. Versuche mit 50° warmen Wasser. 31. XII. 1919.

I. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	II. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	III. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	IV. Kontrollen. 10 ccm Sput. in 20% Antif.	V. 25 ccm Sputum + 100 ccm 10% Antif. 50°
Einwirkungszeit 2 St.	Einwirkungszeit 4 St.	Einwirkungszeit 6 St.	Einwirkungsdauer 5 St.	1/2 St. Einwirkungszeit.
Das Sputum wird herausgefischt u. davon je 2 ccm s. c. gespritzt.	Behandlung ebenso wie I. Je 2 ccm s. c. gespritzt.	Behandlung ebenso wie I. Je 2 ccm s. c. gespritzt.	Zentrifugiert u. gewasch. 2 ccm s. c.	Zentrifugiert 3× gewaschen. Je 2 ccm s. c.
M. 4528. † 10. II. Tuberkulose der Leber, Milz und Drüsen. T. B. + in Leber, Drüsen und Lunge.	M. 4530. † 13. III. Schwere Tuberk. der Lungen, Leber, Milz und Drüsen.	M. 4532. † 24. IV. Schwere Tuberk. der Lungen, Leber. Milz. In Drüsen, Lunge, Drüsen T. B. +	M. 4525. † 10. II. Tuberkulose Lunge, Leber, Milz, Drüsen T. B. +	M. 4526. † 30. III. Tuberkulose. T. B. +
M. 4529. † 4. IX. Sehr schwere Tuberkulose. T. B. +	M. 4531. † 23. II. Schwere Tuberk. T. B. + in Leber.	M. 4533. † 6. II. T. B. in Milz, Leber u. Drüsen +		M. 4527. † 16. II. Tuberkulose. T. B. +

Tabelle 35. Versuche mit 60° warmem Wasser. 2. I. 1920.

I. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	II. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	III. 50 ccm Sputum + 200 ccm warmes Wasser	IV. 10 ccm Sputum + 100 ccm % NaOH 60°	V. Kontrolle 2 ccm Sputum + 20 ccm 5% Antiform.
Einwirkungszeit 2 St.	Einwirkungszeit 4 St.	Eiuwirkungszeit 6 St.	Einwirkuugszeit 1/2 St.	6—8, eingewirkt.
Sputumballen herausgefischt und Je 2 ccm s. c. gespritzt.	Sputumballen herausgefischt und Je 2 ccm s. c. gespritzt.	Sputumballen herausgefischt und Je 2 ccm s. c. gespritzt,	Zentrifugiert und 3× gewaschen und Je 2,0 ccm s. c. injiziert.	Zentrifugiert und 1× gewaschen. 2,0 ccm s. c. injiziert.
M. 4536. † 21. V. Schwere Tuberkulose. In Drüsen, Lunge und Leber. T. B. +	M. 4538. † 13. VI. Tuberkulose der Drüsen. T. B. +	M. 4540. Am 19. V. noch gesund, dann in andere Versuche genommen.	M. 4534. † 12. I. o. B.	M. 4542. † 18. XI. 20. Sehr schwere Tuberkulose d. Lunge, Leber, Milz, in denen T. B. + In Drüsen T. B. +
M. 4537. † 17. VII. Tuberkulose. T. B. +	M. 4539. † 11. III. Tuberkulose der Lunge, Leber, Milz und Drüsen. T. B. + in Drüsen, Lunge und Leber.	M. 4541. Am 19. V. noch gesund, dann in andere Versuche genommen.	M. 4535. † 26. II. Tuberkulose der Leber, Lunge und Milz. Drüsen o. B. T. B. in Milz.	

Tabelle 86.
Versuche mit 60° Wasser (untergetaucht.)
12. II. 20.

I. 10 ccm Wasser 60° + 5 ccm Sputum	II. 10 ccm Wasser 60° + 5 ccm Sputum	III. Kontrolle. 10 ccm 10% Antiformin, kalt + 5 ccm Sputum
2 St. unter Wasser fast homogen, milchig trübe.	4 St. unter Wasser fast homogen, milchig.	bis zur Homogenisierung.
Zentrifugiert.	Zentrifugiert	Zentrifugiert und 2× gewaschen.
Bodensatz mit 4,0 NaCl aufgeschwemmt und s. c. gespritzt.	Bodensatz mit 4,0 NaCl aufgeschwemmt und s. c. gespritzt.	Bodensatz mit 4,0 NaCl aufgeschwemmt und s. c. gespritzt.
M. 4595. Überlebt, Keine Tuberk. † 24. I. 1921. Getötet. Keine Spur von Tuberk.	M. 4593. † Getötet 24. I. 1921. Keine Spur von Tuberk.	M. 4591. † 7. VI. Schwere Tuberk. T. B. + in Lungen und Drüsen.
M. 4596. † 10. III. Keine Drüsen. Keine T. B. In Milz Doppelstäbchen.	M. 4594. † 1. X. getötet, keine Tuberk. nachweisbar. T. B.—	M. 4592. † 22. V. Schwere Tuberk.

Wassers, das eine Koagulation der in dem Sputum enthaltenen Eiweißmassen herbeiführt und eine direkte Beeinflussung der darin eingeschlossenen T.B. sehr erheblich erschwert, so daß die kurze Einwirkungsdauer von 1 Stunde selbst bei 50 und 60° zur Abtötung nicht mehr ausreicht.

Tabelle 87.
Versuche mit 60° Wasser.
30. XII. 1919.

I. 500 ccm Wasser 60° + 40 ccm Sputum (T.B. +++)	II. } Dasselbe Gemisch	III. } Dasselbe Gemisch
n. 2 Stunden 50 ccm entnommen.	nach 4 Stunden weitere 50 ccm entnommen.	n. 6 Stunden weitere 50 ccm entnommen.
Abzentrifugiert u. Bodensatz 3× mit NaCl gewasch. Je 2 ccm Bodensatz s. c.	} Behandlung wie I.	} Behandlung wie I.
M. 71. † 14. I. Stallseuche.	M. 65. † 12. II. In Milz Knötchen. Leistendrüse geschwollen und verkäst. T. B. +	M. 68. † 16. I. Stallseuche.
M. 72. † 31. I. Tuberkulose der Milz, Leber, Lunge und Drüsen. T. B. +	M. 66. † 22. III. Sektion o. B. T. B. —	M. 69. † 9. I. Abszeß an Inj.-Stelle. Leistendrüse vergrössert mit T. B. +. Stallseuche.
M. 73. † 6. I. Stallseuche.	M. 67. † 17. I. Stallseuche.	M. 70. † 9. I. Leistendrüse vergrössert mit T. B. + Stallseuche.

Tabelle 88.

Etappenversuch mit Antiformin-Chlorkalk.
13. X. 1920.

I. 100 ccm 20 % Antiformin.	II. Kontrolle: 100 ccm 20 % Antiformin.
10^{15} 10^{33} 10^{44} 11^{00} je 5 ccm Sputum zugesetzt 11^{30}—10 ccm Sputum 11^{54} 12^{18}—10 ccm Sputum 12^{33} insgesamt 50 ccm	ebenso insgesamt 50 ccm Sputum wie bei I.
4^{15} + 50 ccm Wasser mit 10 g Chlorkalk (75 % Cl.) 5^{50} 90 ccm in 3 Zentrifugengläser abzentrifugiert und 3 × mit NaCl gewaschen. Je 3,0 Bodensatz s. c.	5^{50} 60 ccm in 3 Zentrifugengläsern abzentrifugiert und 3 × mit NaCl gewaschen. Je 3,0 Bodensatz s. c.
M. 88. 1. XII. Abszeß an Injektionsstelle † 30. XII. Sektion o. B. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 90. † 12. XI. Tuberkulose der Milz und verkästen Drüsen T. B. +
M. 89. 1. XII. Großes Abszeß an Inj.-Stelle. † 11. I. Stallseuche. An Inj.-Stelle narbige Infiltration. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 91. 10. XI. Drüsen r. stark geschwollen. † 3. I. 21. Typischer Tb-Befund. In Lungen, Leber, Milz u. Drüsen T. B. +

Von der Richtigkeit dieser Annahme haben wir uns dann in entsprechenden Versuchen mit warmem Wasser allein überzeugen können. Wurden z. B., wie man aus den Tabellen 33—37 ersieht, 40 oder 50 ccm tbc-haltigen Sputums selbst große Mengen warmen Wassers zugesetzt, das im Wasserbad dauernd auf 50 oder 60° gehalten wurde, so reichte die 50° warme Flüssigkeit selbst bei 6stündiger Einwirkungszeit nicht aus, um die T.B. des Sputums zum Absterben zu bringen. Etwas günstiger waren die Ergebnisse bei 60°, indem hierbei die T.B. innerhalb 6 Stunden fast immer abstarben (ausgenommen Versuch III, Tabelle 37), während kürzere Zeiten, wie 4 und 2 Stunden, niemals ausreichten.

Nachdem alle diese Versuche, die bakterizide Kraft des Antiformins zu steigern, auch bei Anwendung der Wärme für die praktischen Verhältnisse gescheitert waren, versuchten wir schließlich noch eine Erhöhung der bakterientötenden Komponenten, des freien Chlors und des naszierenden Sauerstoffes, durch Zusatz eines möglichst reinen hochwertigen Chlorpräparates zu erreichen. Als solches stand uns der von Bayer & Co. zur Trinkwassersterilisation empfohlene Chlorkalk zur Verfügung, der im Gegensatz zu den sonstigen Chlorkalksorten des Handels etwa 75% actives Chlor enthält und sehr haltbar ist, wie auch Jötten[1]) in früheren Versuchen über Sterilisation und Trinkwasser feststellen konnte. Durch

1) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 81, 1916.

Tabelle 39.

Desinfektionsversuch am Krankenbette. 14./15. X. 1920.

I. 14. X.	II. 15. X.	III. Kontrolle.
Sputumgefäß mit 100 ccm 20% Antiformin. Dazu über Nacht ca. 50 ccm Sputum (T. B. ++) bis 9 Uhr früh	Sputumgefäß mit 250 ccm 20% Antiformin Dazu über Nacht ca. 50 ccm Sputum (T. B. ++) bis 8 Uhr früh	Vor Einfüllen des Chlorkalks werden 50 ccm Sputumflüssigkeit entnommen und abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen.
Um 11^{50} Uhr (2½ St.) später 50 ccm Wasser mit 10 g Calc. chlor. (75% Cl) zuges. und 1½ St. eingewirkt. Abzentrifugiert und 4× mit NaCl gewaschen. Je 5 ccm Bodensatz s. c.	9^{45} Uhr 50 ccm Wasser mit 10 g Calc. chlor. (pur.) zugesetzt, eingewirkt 2 St. bis 11^{45}. Abzentrifugiert und 4× mit NaCl gewaschen. Je 5 ccm Bodensatz s. c.	Der Bodensatz 2 Meerschweinchen s. c. injiziert.
M. 92. † 21. XI. Die ganze injizierte Masse ist absorbiert u. Unterhautzellgewebe sulzig infiltr. Alle Organe o. B. frei v. T. B.	M. 98. † 17. I. Schwere Tuberkulose. T. B. +	M. 100. 10. XI. Abszeß und Drüsen beiderseits. † 16. XI. Überaus typischer Tb-befund. T. B. +
M. 93. † 22. XI. Befund wie bei 92. Keine Spur von Tuberkulose.	M. 99. † 27. XII. Milz stark vergrößert und von Knötchen durchsetzt, ebenso Lunge und Leber. Drüsen verkäst. T. B. +	M. 101. 10. XI. Abszeß und Drüsen beiderseits geschwollen. † 16. XI. Schwere Tuberkul. T. B. +

Zusatz dieses viel Chlor enthaltenden Präparates hofften wir die bakterizide Wirkung wesentlich erhöhen zu können. Die Zugabe des Chlorkalks erfolgte, nachdem das Sputum in 100—250 ccm 20proz. Antiforminlösung entweder direkt am Krankenbett über Nacht aufgefangen oder im Laboratorium in Etappen zugesetzt und gut homogenisiert war.

Es wurden 10 g Chlorkalk-Bayer, in 50 ccm Wasser gut verrieben, dem Sputumantiformingemisch zugesetzt und gut umgeschüttelt. Es resultierte eine milchig-getrübte Flüssigkeit, an deren oberen Spiegel starke Schaumbildung entstand. Nach 1½—2stündiger Einwirkung wurde ein großer Teil des Sputumantiforminchlorkalkgemisches in Zentrifugengläser abgefüllt und ¼ Stunde scharf zentrifugiert, Die Bodensätze wurden schließlich dreimal mit phys. Kochsalzlösung je 10′ gewaschen und je 2 Meerschweinchen s. c. injiziert. Wie aus den beigegebenen Tabellen 38 bis 40 ersichtlich, konnten in keinem derartig vorbehandelten Sputum vermittels Tierimpfungen lebende T. B. mehr nachgewiesen werden, während dieses in den Sputen, die mit 20% Antiformin allein vorbehandelt waren, immer der Fall war. Wurden aber (s. Tabelle 39) an Stelle dieses hochprozentigen Präparates 10 g gewöhnlichen Chlorkalks verwendet, so erfolgte keine Abtötung der T.B., trotzdem dieser 2 Stunden lang hatte einwirken können, während in derselben Versuchsreihe nach Zugabe von 10 g ChlorkalkBayer schon nach 1½ Stunden die T.B. unschädlich gemacht waren.

Tabelle 40.

Desinfektionsversuche am

I. Sputumgefäß m. 250ccm 10% Alkali-Lysol. Über Nacht dazu ca. 160 ccm Sput. (T. B. ++) bis 9 h 30 früh	II. Sputumgef. m. 250 ccm 10% Alkali-Lysol Über Nacht dazu ca. 30 ccm Sputum (T.B.++) bis 9 h 30 früh	III. Sputumgef. m. 200ccm 20% Antiformin + 20 ccm Sputum über Nacht
		um 11 h früh
3 St. stehen gelassen	3 St. stehen gelassen	100 ccm entnommen + 50 Aq. dest. mit 10 g Calc. chlor. (75% Cl)
Ca. 50 ccm Sputumballen entnommen, abzentrifugiert und 3× mit Na Cl gewaschen.	Ca. 30 ccm Sputumballen entnommen, abzentrifugiert und 3× mit Na Cl gewaschen.	1½ St. bis 12 h 30 eingewirkt. Abzentrifugiert und 3× mit Na Nl gewaschen.
Je 5 ccm Bodensatz s. c.	Je 5 ccm Bodensatz s. c.	Je 5 ccm Bodensatz s. c.
M 102. 1. XII. o. B. † 17. XII. Sektion o. B. Drüsen u. Organe frei von Tuberkulose.	M 104. 1. XII. o. B. † 16. XII. o. B. Keine Tuberkulose.	M 106. 1. XII. o. B. † 8. I. 1921. Alle Organe, Drüsen frei o. B. Keine Spur von Tuberkulose.
M 103. 1. XII. o. B. † 16. XII. Sektion o. B. Keine Tuberkulose.	M 105. 1. XII. Strang links. † 16. XII. o. B. Keine Tuberkulose.	M 107. 1. XII. Eiternder Abszeß an Inj.-Stelle. † 17. XII. Sektion o. B. Drüsen u. Organe frei von Tuberkulose.

Es lag nun der Gedanke nahe, daß dieser Chlorkalk allein die T.B. schon abgetötet hätte, zumal ja Bofinger[1]) in früheren Versuchen gelegentlich eine Abtötung der Sputum-T.B. beobachten konnte und Musehold[2]), wenn auch nur in stärkeren Konzentrationen, den Chlorkalk zur Abtötung in Sputumflöckchen eingeschlossener T.B. der Kläranlagen empfohlen hat. Bei ad hoc angestellten Desinfektionsversuchen (s. Tabelle 41—43) mit 1,5- und 10%-Chlorkalk-Bayer-Lösungen, in doppelter oder dreifacher Menge Sputum zugesetzt und 2—6stündiger Einwirkungsdauer, war bei Anwendung von 1- und 5%-Lösungen selbst nach 6 Stunden kein Absterben der T.B. festzustellen, ebenso bei der 10proz. nicht nach 2 Stunden; dagegen konnten in dem gewaschenen Sputumbodensatz, der 5 Stunden lang 10proz. Chlorkalk ausgesetzt war, keine lebenden Bazillen mehr nachgewiesen werden; die damit eingespritzten Tiere 64 und 65 zeigten bei der Sektion keine tuberkulösen Erkrankungsformen, auch waren T.B. nicht nachzuweisen, während bei Anwendung des gewöhnlichen Chlorkalks selbst nach 6stündiger Einwirkung noch infektionsfähige T.B. bei den Tieren 166 und 167 in den erkrankten Organen gefunden werden konnten. Der Vorzug dieses reinen hochwertigen Chlorkalks vor dem gewöhnlich im Handel

1) Bofinger, Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 20.
2) Musehold, desgl., Bd. 17.

Tabelle 40.

Krankenbett. 29. X. 1920.

> Kontrolle.	IV. Sputumgefäß mit 200 ccm 20% Antiformin + 20 ccm Sputum über Nacht	> Kontrolle
um 11 h früh	um 11 h früh	um 11 h früh
100 ccm entnommen, abzentrifugiert und 3× mit Na Cl gewaschen.	Ca. 100 ccm entnommen + 50 Aq. dest. mit 10 g Calc. chlor. (75% Cl)	100 ccm entnommen, abzentrifugiert und 3× mit Na Cl gewaschen.
	$1^1/_2$ St. bis 12 h 30 eingewirkt	
	Abzentrifugiert und 3× mit Na Cl gewaschen.	
Je 5 ccm Bodensatz s. c.	Je 5 ccm Bodensatz s. c.	Je 5 ccm Bodensatz s. c.
M 110. 1. XII. Drüsen r. geschwollen. † 6. XII. Tuberkulose der Milz und der Drüsen T. B. +.	M 108. 1. XII. Eiternder Abszeß. † 12. I. Stallseuche. Keine Spur von Tuberkulose.	M 112. 1. XII. Drüsen bds. geschwollen. † 4. XII. Tuberkel in Lunge u. Milz. Drüsen verkäst m. T.B.+.
M 111. 1. XII. Drüsen bds. geschwollen. † 14. XII. Tuberkulose der Drüsen, Leber und Milz. Tuberkel in Lungen.	M 109. 1. XII. Großer Abszeß. † 2. XII. Abszeß an Inj.-Stelle. Pericarditis. Keine Spur von Tuberkulose.	M 113. 1. XII. Drüsen bds. geschwollen. † 17. XII. Typisch. Tbbefund T.B.+.

befindlichen ging eindeutig aus diesen Versuchen hervor. Leider konnte uns von der Firma Bayer & Co. nichts mehr von diesem Präparat zur Verfügung gestellt und eine Wiederholung der Versuche infolgedessen nicht mehr vorgenommen werden. Es ließ sich aber aus den bisherigen Ergebnissen schon mit Sicherheit schließen, daß die günstigen Versuchsergebnisse bei kombinierter Anwendung von 20proz. Antiformin und 10 g Chlorkalk-Bayer nicht dem Chlorkalk allein zukommen, da ja selbst nach 2 Stunden langem Aufenthalt von Sputum in 10% Lösung eine Abtötung der T.B. nicht erfolgt war. Es dürfte vielmehr wohl mit Recht eine kombinierte Wirkung von Antiformin und Chlorkalk durch die Vermehrung des freien Chlors und des naszierenden Sauerstoffs anzunehmen sein.

Wenn auch dieses Sputumdesinfektionsverfahren mit Antiformin und Chlorkalk[1]) einmal wegen des zu hohen Preises und dann auch wegen der schweren Beschaffbarkeit des reinen hochwertigen Chlorpräparates

1) Das von Wolff auf dem Tub.-Kongreß in Bad Elster bekannt gegebene Verfahren der Sputum-Desinfektion mit Chlorkalk und Staßfurter Salz (nach Simon) ist nach unsern mit Hailer angestellten Versuchen unzuverlässig. Die Protokolle bringen wir in einer der nächsten Mitteilungen. Dagegen haben Versuche mit Chloramin (Heyden) gute Ergebnisse gezeitigt (Uhlenhuth und Hailer).

Tabelle 41.

Versuche mit Chlorkalk (Bayer u. Co.) 75% freies Chlor. 4./5. X. 1920.

1. 30 ccm 5% Chlorkalk + 20 ccm Sputum	II. 30 ccm 1% Chlorkalk + 15 ccm Sputum	III. 30 ccm 1% Chlorkalk + 15 ccm Sputum	IV. 30 ccm 10% Chlorkalk + 15 ccm Sputum	V. Kontrolle. 20 ccm 10% Antiformin + 10 ccm Sputum
2 Stunden	2 Stunden lang	6 Stunden lang	2 Stunden lang	2 Stunden
Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert u. 3× mit NaCl gewaschen. Je 2 ccm Bodens. s. c.
M. 66. 10. XI. o. B. † 30. XI. Drüsen r. geschwollen mit T. B. + sonst o. B.	M. 70. 10. XI. Abszeß a. Inj.-Stelle † 11. XI. Typ. Tuberkbef. all. Organe. In d. verkästen Drüsen T. B. +	M. 72. † 20. X. Abzeß a. Inj.-Stel. Drüsen geschwollen, Milz vergrößert. In Drüsen T. B. +	M. 74. 10. XI. Drüsen bds. geschwollen. † 18. XI. Typ. Tuberkbef. T. B. +	M. 68. † 20. X. Drüsen bds. geschwollen mit T. B. + In der geschwoll. Milz vereinzelte Knötchen.
M. 67. 10. XI. o. B. † 12. XI. Knötchen in der Milz mit T. B. +	M. 71. Zu früh gestorben. † 23. X. Organe frei. In Drüsen T. B. +	M. 73. † 10. XI. Typischer Tb-Befund aller Organe. T. B. +	M. 75. 10. XI. Drüsen bds. geschwollen. † 25. XI. Typ. Tb-Befund. T. B. +	M. 69. † 22. X. Abzeß an Inj.-Stelle. Drüsen u. Milz geschwollen mit T. B. +

Tabelle 42.

Versuche mit Chlorkalk (Bayer und Co.) 75% freies Chlor. 1. und 6. X. 1920.

1. X. 30 ccm 10% Chlorkalk + 10 ccm Sputum (T. B. +++)	6. X. 50 ccm 5% Chlorkalk + 25 ccm Sputum (T. B. ++)	6. X. Kontrolle. 50 ccm 20% Antiformin + 25 ccm Sputum
5 Stunden lang	5 Stunden lang	1 Stunde lang
Abzentrifugiert u. 5× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert u. 4× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert u. 3× mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.
M. 64. 10. XI. glatt. † 22. XI. Drüsen und Organe frei von Tuberkulose.	M. 78. 10. XI. Drüsen r. ? † 15. XI. Drüsen beiderseits geschwollen und verkäst. T. B. +. Milz geschwollen und von Knötchen durchsetzt. T. B. +	M. 80. 10. XI. Abszeß und Drüsen beiderseits geschwollen. † 15. XI. Tuberkulose der Lungen, Leber, Milz und Drüsen. T. B. +
M. 65. 10. XI. glatt. † 25. XI. Sektion o. B. Drüsen und Organe frei von Tuberkulose.	M. 79. † 10. XI. Drüsen verkäst. T. B. +. Organe frei.	M. 81. † 20. X. Drüsen beiderseits geschwollen mit T. B. + Pneumonie.

Tabelle 43.

Versuche mit gewöhnlichem Chlorkalk (35 % freies Chlor).

22. XII. 1920.

I. 30 ccm 10 % Chlorkalk + 10 ccm Sputum (T.B.+)	II. 30 ccm 10 % Chlorkalk + 10 ccm Sputum (T.B.+)	III. 30 ccm 10 % Chlorkalk + 10 ccm Sputum (T.B.+)
6 Stunden.	6 Stunden.	6 Stunden.
Abzentrifugiert u. 3 × mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert u. 3 × mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.	Abzentrifugiert u. 3 × mit NaCl gewaschen. Je 2,0 Bodensatz s. c.
M. 162. † 27. XII. Gift!	M. 164. Stallseuche. Abszeß an Inj.-Stelle. † 11. I. 1921. Organe frei von Tbc. Drüsen r. etwas geschwollen T. B. —	M. 166. Stallseuche. † 14. I. 1921. In Drüsen u. Milz T. B. +
M. 163. † 27. XII. Gift!	M. 165. † 12. I. 1921. Seuche. Organe frei von Tbc. Drüsen r. geschwollen mit T. B. +	M. 167. Stallseuche. † 12. I. 1921. Milz von Knötchen durchsetzt. Drüsen r. geschwollen u. verkäst. T. B. +

für die Praxis wohl kaum in Frage kommen dürfte, so waren diese Versuchsergebnisse doch insofern bedeutungsvoll, als sie gezeigt haben, daß die bakterizide Kraft des Antiformins durch geeigneten chemischen Zusatz sich steigern läßt, ähnlich wie das uns in den früheren Versuchen bei Verwendung von erwärmten Lösungen gelungen war.

Bevor wir über unsere weiteren Beobachtungen berichten, möchten wir noch kurz auf ein Verfahren eingehen, das nach dem Vorgang von Kaiser von Schuster im Flüggeschen Institut ausgearbeitet ist und auch nach vorhergehender Homogenisierung des Sputums mit Kalkmilch die Abtötung der T.B. durch Wärme, die durch Zugabe von Ätzkalk hervorgerufen wird, herbeiführen soll (s. Flügge, Grundr. der Hygiene, neueste Auflage und Schuster, Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-Kr., Bd. 92, H. 3).

Das Sputum wird dabei in 20proz. Kalkmilch aufgefangen und nach erfolgter Homogenisierung wird ungefähr die doppelte Menge guter ungelöschter Kalk (Ätzkalk) in Stücken zugesetzt, sodaß dieselben den oberen Flüssigkeitsspiegel überragen. Unter starker Wärmeentwicklung nimmt dann das ganze Sputum- und Kalkgemisch eine derartige Hitze an, daß sie ausreichen soll, um alle T.B. abzutöten.

Das Verfahren hat den Vorzug der Einfachheit, nur ist, wie wir uns in mehreren eigenen Versuchen überzeugen konnten, die Homogenisierung wenig befriedigend und leider häufiger auch mit einem Springen der Speigläser (selbst aus Jenaer Glas!) zu rechnen; weiter läßt sich ein Umherspritzen der Kalksputummassen bei der Hitzeentwicklung schwer verhüten. Der Hauptübelstand besteht aber darin, daß die Wärmeentwicklung nicht immer so vor sich geht, wie Schuster sie für die Abtötung der T.B. verlangt. Wie aus den beigegebenen Protokollen (Tabelle 44) hervorgeht, wurden selbst bei Verwendung ganz frisch im Platin-

Tabelle 44.

Versuche mit Ätzkalk nach Schuster.

5. und 7. X. 1920.

5. X. I. 50 ccm Kalkmilch +25 ccm Sput. (T.B.+++++)	7. X. II. 100 ccm Kalkmilch + 50 ccm Sput. (T. B.++++)	7. X. III. Kontrolle.
7 St. stehen gelassen Dann geglühter Weißkalk in Stücken zugesetzt (5 h). 5 h^{1} — 60° 5 h^{2} — 80° 5 h^{3} — 85° 5 h^{4} — 88° 5 h^{5} — 88° 5 h^{23} — 54° 5 h^{6} — 87° 5 h^{28} — 52° 5 h^{9} — 82° 5 h^{32} — 50° 5 h^{10} — 80° 5 h^{17} — 68°	$6^{1}/_{2}$ St. stehen gelassen Dann Zusatz von frisch geglüht. Weißkalk i. Stück. 4 h^{51} 4^{51} — 17° 4^{53} — 68° 4^{54} — 85° 4^{55} — 93° 4^{56} — 97° 5 h^{16} — 74° 4^{58} — 99° 5 h^{21} — 66° 5^{01} — 98° 5^{06} — 90° 5^{11} — 83°	Sputum von II. mit 10% Antiformin homogenisiert, zentrifugiert und 3× mit NaCl gewaschen.
Kalkgemisch m. NaCl 250 ccm verrieben u. die überstehende Flüssigkeit abgehebert und zentrifugiert. Je 5 ccm Bodensatz s. c. T. B. +.	5 h^{30}. Kalkmenge in ca. 150 ccm NaCl verrieben u. 1 St. absitzen gelassen. Überstehende Flüssigkt. 10′ scharf zentrifugiert u. der Bodensatz 2 Tieren s. c. injiziert.	Je 2,0 Bodensatz s. c.
M 76. 10. XI. Großer Abszeß an Inj.-Stelle. † 22. XI. Sektion o. B. Organe und Drüsen frei. Abszeß an Inj.-Stelle. T. B. —. M 77. Inj. i. p. gegangen. † 6. X. Peritonitis.	M 84. † 20. X. Pneumonie bds. Die eingespritzte Masse hat sich abszediert. M 85. 10. XI. Großer Abszeß an Inj.-Stelle. † 16. XI. Abszeß an Inj.-Stelle. Drüsen und Organe frei. Keine Tuberkulose.	M 86. 10. XI. Drüsen bds. geschwollen. † 16. XI. Überaus typisch. Tb.-Befund. T. B. +. M 87. † 10. XI. Großer Abszeß an Inj.-Stelle. Tuberkel in Lungen bds. Milz von Tuberkel durchsetzt. Drüsen bds. verkäst. T. B. +.

Versuch vom 6. X.

50 ccm Kalkmilch + 25 ccm Sputum (T.B.++)	Verarbeitet 5 h.	M 82.
$6^{1}/_{2}$ St. stehen gelassen Dann geglühter Weißkalk in Stücken zugesetzt. (4 h^{24}) 4 h^{24} — 17° 4 h^{33} — 62,5° 4 h^{26} — 70° 4 h^{34} — 69° 4 h^{28} — 73° 4 h^{35} — 57° 4 h^{30} — 70° 4 h^{42} — 48° 4 h^{31} — 65°	Zunächst im Mörser mit NaCl verrieben und dann insgesamt in 100 ccm NaCl aufgeschwemmt. Stehen u. absitzen lassen und die überstehende Flüssigkeit abzentrifugiert und der Bodensatz 2 Tieren s. c. injiziert.	10. XI. Großer Abszeß an Inj.-Stelle. Drüsen? † 23. XI. Typisch. Tb.-Befund. T.B.+. M 83. 10. XI. Großer Abszeß und Drüsen bds. geschwollen. † 23. XI. Typischer Tb.-Befund. T. B. +.

tiegel geglühten Weißkalks nicht immer die gewünschten Temperaturen von 80—90° und höher erzielt, die erforderlich sind, da die Hitzeeinwirkung doch immerhin eine nur verhältnismäßig kurze ist. (In mehreren Versuchsreihen wurden nur Temperaturen von 50—60° erreicht.)

Dementsprechend fielen auch die von Dr Jötten angestellten praktischen Desinfektionsversuche aus, die genau nach den Schusterschen Vorschriften (nach Mitteilung durch Herrn Geh.-Rat Flügge an Dr. Jötten) ausgeführt waren.

Der ganze restierende ziemlich feste Kalkklumpen, der sich nur schwer aus den Gläsern herausheben oder -schaben ließ, wurde im Mörser mit phys. NaCl-Lösung verrieben und 1—2 Stunden stehen gelassen. Die Kalkmassen hatten sich daraufhin zu Boden gesetzt und darüber stand eine leicht milchig getrübte Flüssigkeit, die, abgehebert und zentrifugiert, einen Bodensatz lieferte, der reichlich T.B. enthielt. Diese Bodensätze wurden Meerschweinchen s. c. injiziert. Wie man der Tabelle 44 entnehmen kann, wurden in den Sputen, die einer Wärmeentwicklung von 80—90^0 und mehr Grad ausgesetzt waren, die T.B. abgetötet, während dieses bei geringeren Temperaturen nicht der Fall war.

Würde man also einen derartigen, hohe Temperaturen entwickelnden Ätzkalk stets zur Verfügung haben, so wäre die Methode als zuverlässig anzusehen, wenn auch mit dem Springen der Gläser und dem nicht ungefährlichen Umherspritzen der sich explosionsartig erhitzenden Sputumkalkmassen zu rechnen sein dürfte. Ob sie sich daher für die Praxis in der Hand des Laien eignet, müssen weitere Erfahrungen lehren, sofern überhaupt die Bereitstellung größerer Mengen sicher einwandsfreien, d. h. genügende Hitze entwickelnden, längere Zeit haltbaren Ätzkalks möglich ist.

Beitrag zur Frage der Invasionsfähigkeit der im amerikanischen Speck enthaltenen Trichinen nebst Versuchen über den Einfluß der Trockenpökelung auf die Lebensfähigkeit der Muskeltrichinen.

Von

Dr. med. vet. Erich Süskind.

(Bei der Redaktion eingegangen am 27. Juni 1921.)

Die Zweifel, die betreffs der Gesundheitsschädlichkeit der 1919 und 1920 eingeführten, häufig stark durchgepökelten amerikanischen Schweinefleischwaren laut wurden, veranlaßten mich, Versuche über die Lebensfähigkeit der Trichinen in derartigen Waren auszuführen und im Verfolg dieser Versuche den Einfluß von Kochsalz in Substanz auf die Lebensfähigkeit eingekapselter Muskeltrichinen zu prüfen.

I. Die Invasionsfähigkeit der im amerikanischen Speck enthaltenen Trichinen.

Betreffs der Häufigkeit der Trichinen in den amerikanischen Schweinefleischwaren der Jahre 1919 und 1920 ist zu bemerken, daß von 2566310 Stück Schinken, Speckseiten und Fleischstücken, die in den Beschaustellen zu Hamburg, Dresden, Pirna, Hof, München, Stuttgart und Mannheim insgesamt zur Untersuchung gelangten, 0,058% Trichinen aufwiesen. Bei der Höhe der Stückzahl (ca. 2,5 Millionen), aus der dieser Prozentsatz berechnet ist, darf man diese Zahl als Durchschnittswert für den Gehalt sämtlicher in Deutschland damals untersuchter amerikanischer Pökelfleischsendungen an trichinösen Stücken betrachten. Es finden sich daher in amerikanischem Schweinefleisch ungefähr 14,5mal häufiger Trichinen wie im einheimischen, wenn man den zuletzt im Jahre 1912 in Deutschland für einheimische Schweine ermittelten Prozentsatz von 0,004 zugrunde legt. Dieser große Unterschied in der Häufigkeit der Trichinenfunde ist dem Fehlen einer Trichinenschau in Amerika, wie auch dem häufigeren Vorkommen von Trichinen bei amerikanischen Schweinen zuzuschreiben.

Die Versuche über die Invasionsfähigkeit der in amerikanischem Fleische enthaltenen Trichinen habe ich 1919 und 1920 an 15 ausgewachsenen Meerschweinchen mit gepökelten, trichinösen amerikanischen Schinken- und Speckseiten am Schlachthofe zu Stuttgart angestellt, ohne ein einziges positives Resultat zu erhalten. Zur Vorbereitung für die Fütterung wurden, um ein vorzeitiges Verenden der Tiere an Magen-Darmentzündung zu verhüten, von Fett und

Bindegewebe befreite Fleischstücke von Talergröße ca. 6 Stunden gewässert. Die Stücke wurden dann, klein zerschnitten, mit der Pinzette den Tieren in den Rachen geschoben, wobei ich mich immer davon überzeugte, daß sie alles geschluckt hatten. Keines der Meerschweinchen zeigte nach den Fütterungen irgendwelche Krankheitssymptome. Fünf Tiere fütterte ich mit Fleischproben, die aus den innersten Schichten je eines stark trichinösen, gepökelten Schinkens unmittelbar am Knochen entnommen worden waren. Die Entfernung der innersten Schichten von der Oberfläche der 5 Schinken betrug entsprechend der Größe derselben 8 bis 10 cm. Ihr Kochsalzgehalt in dieser Tiefe schwankte zwischen 16,61 und 18,99%. Trotz dieses hohen Kochsalzgehaltes führte ich die Fütterungen durch, da Böhm[1]) Trichinen aus einem Fleischstücke „mit starkem Salzgehalte" zur Weiterentwicklung bringen konnte. Die Proben nahm ich immer aus den Abschnitten der Schinken, deren Oberfläche mit Schwarte bedeckt war. Die Zahl der Trichinen in den verabfolgten Fleischmengen berechnete ich nach dem Trichinengehalte des betreffenden Schinkens. Dieser Gehalt wurde aus dem Gewicht von 30 von verschiedenen Stellen des Schinkens genommenen Quetschpräparaten und der Zahl der in den Präparaten enthaltenen und unter dem Kompressorium abgezählten Trichinen ermittelt. Ich verwandte nur Fleisch mit Trichinen, deren Zellkörper und Darm gut erhalten waren und deren Kapsel sich deutlich konturiert zeigte. Das erste Meerschweinchen erhielt Proben von einem Schinken aus 8 cm Tiefe im Gewichte von 23,487 g mit 27902 Trichinen. Beim zweiten Meerschweinchen und zweiten Schinken lauten die entsprechenden Zahlen: Tiefe 9 cm, Proben 13,910 g, Trichinen 19557 Stück, beim dritten Meerschweinchen und dritten Schinken: Tiefe 9 cm, Proben 56,791 g, Trichinen 9900 Stück, beim vierten Meerschweinchen und vierten Schinken: Tiefe 10 cm, Proben 13,231 g, Trichinen 22347 Stück, beim fünften Meerschweinchen und fünften Schinken: Tiefe 10 cm, Proben 9,169 g, Trichinen 27360 Stück.

Da Johne[2]) von einem 1880 durch Neumann ausgeführten und positiv ausgefallenen Versuche an einem Kaninchen mit amerikanischem Bauchspeck berichtet, so machte ich gleichzeitig mit den Schinkenversuchen 10 Fütterungsversuche mit gepökelten, stark trichinösen amerikanischen Speckseiten an 10 Meerschweinchen. Hiezu wurden die nach innen dem Speck auflagernden Muskelschichten benutzt. Diese Versuche wurden geradeso und unter denselben Bedingungen ausgeführt wie diejenigen mit Schinken. Die 10 Meerschweinchen wurden in 3 Gruppen eingeteilt, je nach dem Abstand der am weitesten von der Oberfläche entfernten Muskelschichten von derselben. Von der ersten Gruppe, bestehend aus 3 Meerschweinchen, erhielt jedes derselben Proben im Gewichte von 30,60 bis 41,51 g mit 25431 bis 28670 Trichinen aus je einer Speckseite, deren Muskelschichte 4 cm dick war. Bei der zweiten Gruppe (3 Meerschweinchen) waren die

1) Böhm, Fütterungsversuche mit trichinösem amerikanischem Schweinegleisch. Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, X. Jahrg., Dez. 1899.

2) Johne, Beiträge zur Kenntnis der Trichinosis bei Schweinen. Deutsche Zeitschrift für Tiermed. u. vergl. Path. 1884, S. 281.

entsprechenden Zahlen: Proben 18,930 bis 26,243 g, Trichinen 20785 bis 26112 Stück, Dicke 5 cm, bei der dritten Gruppe (4 Meerschweinchen): Proben 14,788 bis 19,373 g, Trichinen 17564 bis 24256 Stück, Dicke 6 cm.

Da vergebliches Suchen nach Darmtrichinen noch kein sicherer Beweis für deren Abwesenheit ist und selbst deren Auffinden nur ein Beweis für die Lebens-, nicht aber für die Invasionsfähigkeit der Trichinen bildet, so untersuchte ich die Meerschweinchen nur auf Muskeltrichinen. Dies geschah frühestens 42 Tage nach der ersten Fütterung, da nach dieser Zeit die Muskeltrichinen ausgewachsen sind, daher nicht mehr übersehen werden können. Aus der Muskulatur jedes Tieres fertigte ich im Kompressorium 170 zehnpfennigstückgroße Quetschpräparate an, die der Bauch-, Zwerchfell-, Zwischenrippen-, Kau-, Kehlkopf-, Zungen- und Extremitätenmuskulatur entnommen wurden.

Meine 15 Versuche wurden nur mit stark gesalzenen amerikanischen Speckseiten und Schinken angestellt, da mir schwach gesalzene nicht zur Verfügung standen. Irgend ein positives Ergebnis war, wie schon erwähnt, nicht zu erzielen. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch Feuereißen[1]), Junack[2]) und Hientzsch[3]), von denen die beiden letzteren gleichzeitig mit mir im Berliner Schlachthoflaboratorium Fütterungsversuche ausgeführt haben.

2. Versuche über den Einfluß der Trockenpökelung auf die Lebensfähigkeit der Muskeltrichinen.

Sieben Stücke sehr stark trichinösen Meerschweinchenfleisches von ungefähr gleicher Dicke wurden mit käuflichem Speisekochsalz in verschiedener, jeweils bestimmter Menge trocken gepökelt. Die 7 Stücke wurden in 3 Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe bestand aus 3 Stücken mit Trichinen im Alter von 6, die zweite aus 2 Stücken mit Trichinen im Alter von 8 und die dritte aus 2 Stücken mit solchen im Alter von 10 Wochen. Um das Alter der Muskeltrichinen annähernd richtig zu erhalten, wurde jedes Meerschweinchen, dessen Fleisch ich pökeln wollte, vom Tage der Infektion an gerechnet, 11 Tage länger am Leben gelassen als dem jeweils von mir gewünschten Alter der Trichinen entsprach, da erst 9 bis 10 Tage nach der Infektion die Embryonen in großer Zahl in den Muskelfasern sich finden. Die Infektionsfähigkeit 6 Wochen alter Muskeltrichinen kann keinem Zweifel unterliegen. Denn nach den Versuchen von v. Ostertag[4]) tritt sie ein,

1) Feuereißen, Erfahrungen mit trichinösem Fleisch. Übertragbare Trichinen im amerikanischen Gefrierfleisch. Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene, 30. Jahrg., 1920, S. 251.

2) Junack, Zur Invasionstüchtigkeit der Trichinen im zubereiteten amerikanischen Schweinefleisch. Deutsche Schlacht- und Viehhofzeitung, 20. Jahrg., 1920, S. 318.

3) Hientzsch, Untersuchung über die Lebens- und Invasionsfähigkeit der Trichinen, die in den zurzeit aus Amerika eingeführten Fleischwaren nachzuweisen sind. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., 31. Jahrg., 1921, S. 99.

4) v. Ostertag, Vermögen Darmtrichinen und wandernde Trichinen auf einen neuen Wirt überzugehen? Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg., 3. Jahrg., 1893, Heft 3.

wenn die jungen Trichinen, vom Tage ihrer Geburt an gerechnet, ein Alter von 17 bis 18 Tagen erreicht haben, ein Alter, wo ihre Geschlechtsorgane sich eben angelegt haben. Vor der Pökelung wurde jeder Meerschweinchenkörper nach Entfernung des der Muskulatur aufsitzenden Fettes kurze Zeit an einem kühlen, luftigen Orte aufgehängt, bis die Oberfläche des Fleisches etwas abgetrocknet war. Sodann wurde die hintere Körperhälfte abgetrennt und immer nur dieses Fleischstück benutzt, weil hier die dicksten Muskelmassen des ganzen Rumpfes sich befinden. Die 6 gesalzenen Fleischstücke wiesen an der dicksten Stelle ihrer Muskulatur, in der Reihenfolge der Versuche aufgezählt, einen Durchmesser von 2,0; 1,9; 1,6; 1,9; 2,1 und 2,3 cm auf. Hierauf wurde jede Hinterhälfte gewogen. Trockenpökelung wurde deshalb angewandt, weil die seit 1919 nach Deutschland eingeführten amerikanischen Schweinefleischwaren in der Regel in dieser Weise gepökelt sind. Das eine Fleischstück aus jeder Gruppe wurde schwach gepökelt, indem 5 g Salz auf je 100 g Fleischgewicht genommen wurden wie bei der in Deutschland üblichen Trockenpökelungsmethode, wo auf 1000 g Fleischgewicht 500 g Salz gerechnet werden, das andere wurde stark gepökelt, indem je 100 g Fleischgewicht 10 g Salz zugesetzt wurden, in der Erwartung, daß jugendliche Trichinen bei diesem Pökelungsgrad frühzeitig absterben. Das dritte Stück der ersten Gruppe wurde in Gestalt des ganzen Meerschweinchenkörpers zur Kontrolle ungesalzen aufbewahrt und in einer Kühlzelle bei + 3 bis 4° C aufgehängt. Das auf das Fleisch gestreute Salz wurde durch Reiben gleichmäßig über die Gesamtoberfläche desselben verteilt. Jedes gesalzene Fleischstück kam für sich in ein weites, zylindrisches Glasgefäß auf einen durchbrochenen Holzboden zu liegen, damit das infolge der hygroskopischen Wirkung des Salzes aus dem Fleische austretende Wasser ablaufen konnte. Durch die vorhergehende, leichte Abtrocknung der ziemlich feuchten Fleischoberfläche erreichte man, daß das Kochsalz nicht von der an der Oberfläche befindlichen Flüssigkeit zusammen mit austretendem Wasser gelöst weggeschwemmt wurde, noch ehe es zur vollständigen Entfaltung seiner austrocknenden Wirkung gelangte. Die Abtrocknung des nicht gesalzenen Fleisches geschah, um die Lebenstätigkeit der Fäulnisbakterien zu hemmen. Die Glasgefäße samt Inhalt wurden unbedeckt in einem Raume der Kühlhalle aufbewahrt, dessen Temperatur sich ständig auf + 3 bis 4° C hielt und in dem die Luft immer einen solchen Feuchtigkeitsgehalt aufwies, daß das Fleisch nicht ausgetrocknet werden konnte. Aus den inneren Muskelschichten eines jeden Fleischstückes verfütterte ich sodann nach bestimmten Zeitabschnitten ungefähr eine Stunde lang gewässerte Muskelstückchen an je ein Meerschweinchen oder eine Maus, was von beiden Tierarten gerade bei dem damals herrschenden Mangel an Versuchstieren zu erhalten war. Obwohl Velkeen[1]) 1913 fand, daß beim Meerschweinchen schon 15 bis 20 Muskeltrichinen genügen, um es zu trichinisieren, und nach den Ermittlungen der Berliner Städtischen Fleischbeschau[2]) 1902 bei einer Ratte bzw.

1) Velkeen, Inaug.-Diss. Berlin 1913. Ref.-Zeitschrift für Fleisch- u. Milchhyg., 24. Jahrg. 1914.

2) Bericht der Berliner Städtischen Fleischbeschau für das Etats-

bei einer Maus hiezu nur mindestens 5 bis 7 Trichinen notwendig sind, wurde doch die Zahl der verfütterten Muskeltrichinen so hoch bemessen, daß selbst bei einer großen Zahl unter der Salzwirkung abgestorbener Parasiten doch noch soviele lebende aufgenommen wurden, daß die Tiere infiziert werden konnten. Daher erhielt jede Versuchsmaus 150 bis 300 Trichinen, jedes Meerschweinchen 200 bis 450 Trichinen. Die Feststellung der Zahl der Trichinen geschah mit Hilfe des Mikroskops. Die mit der Pinzette bis in den Schlund der Versuchstiere eingebrachten Fleischstückchen wurden, wovon ich mich jedesmal überzeugte, von ihnen verschluckt. Die gefütterten Tiere wurden frühestens 6 Wochen nach der Infektion untersucht. Die aus der Muskulatur der Meerschweinchen angefertigten Quetschpräparate waren nach Zahl und Verteilung dieselben wie bei meinen Übertragungsversuchen mit trichinösem amerikanischem Fleische. Bei den Mäusen wurden 117 Quetschpräparate aus denselben Muskelgruppen wie bei den Meerschweinchen entnommen.

Die Versuche gingen im einzelnen folgendermaßen vor sich und ergaben nachstehende Resultate:

Die Trichinen der Fleischstücke der ersten Gruppe von am 15. Februar 1920 gefütterten und am 9. April desselben Jahres untersuchten Tieren stammend, waren in Aufrollung begriffen, dabei teils noch nicht enzystiert, teils nur mit einer dünnen Kapsel umgeben. Zwei dieser Fleischstücke im Gewichte von 141,310 und 144,965 g wurden mit 7,065 bzw. 14,496 g Kochsalz gepökelt. Das dritte Fleischstück wurde, wie erwähnt, unvorbehandelt gelassen. Mikroskopisch zeigte sich bei den beiden gesalzenen Stücken schon nach dreitägiger Konservierung an dem Aussehen der Muskeltrichinen deutlich die Wirkung des Kochsalzes: Bei dem schwach gesalzenen Fleische fanden sich in der oberflächlichen Fleischschichte nur bei wenigen enzystierten Trichinen vollständige Kapseln. Bei allen übrigen Trichinen dieser Art waren die Kapseln nur noch in schwachen Resten zu erkennen. Von den Trichinen selbst waren die inneren Organe entweder ganz aufgelöst, so daß bloß noch die geschrumpfte Kutikula vorhanden war, oder der Zellverband der Organe war gelockert und die einzelnen Zellen waren voneinander getrennt und abgerundet. In den inneren Fleischschichten waren derartige Veränderungen seltener und weniger stark ausgeprägt. In dem stark gesalzenen Fleisch traf man selten Parasiten an, die von den genannten Mazerationserscheinungen nicht ergriffen gewesen wären. Im weiteren Verlauf der Trockenpökelung machte sich auf alle Trichinen der Einfluß des Kochsalzes in der geschilderten Art so rasch geltend, daß in dem schwach gepökelten Fleische schon nach 30 Tagen und in dem stark gepökelten schon nach 25 Tagen die Trichinen nicht mehr zu erkennen waren. Daher wurde mit ersterem Fleische nach 3, 7, 14, 21 und 25 und mit letzterem nach 3, 7, 14 und 21 Tagen je ein Meerschweinchen gefüttert. Bei der von Zeit zu Zeit vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung des ungesalzenen Fleisches dagegen zeigten sich selbst nach 35tägiger Aufbewahrung die Trichinen vereinzelt noch intakt, so daß durch einen nach

jahr 1902. Wieviel Trichinen sind erforderlich, um Tiere trichinös zu machen? Ref.-Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 15. Jahrg. 1905.

dieser Zeit wie auch durch einen nach 21 Tagen vorgenommenen Fütterungsversuch an zwei Mäusen Muskeltrichinose hervorgerufen werden konnte. Bei der Sektion zeigten bei sorgfältiger mikroskopischer Untersuchung nur diejenigen Meerschweinchen zahlreiche Trichinen in ihren Muskeln, denen 3 und 7 Tage lang schwach und 3 Tage hindurch stark gepökeltes Fleisch gegeben worden war.

Es sterben daher durchschnittlich 6 Wochen alte Muskeltrichinen in ca. 2 cm dicken Fleischstücken zwischen 7 und 14 Tagen ab, wenn diese mit einer dem 20. Teil ihres Gewichtes entsprechenden Kochsalzmenge trocken gepökelt werden, und zwischen 3 und 7 Tagen, wenn dies mit der doppelten Kochsalzmenge geschieht. Im unvorbehandelten Fleische waren die 6 Wochen alten Muskeltrichinen nach 35 Tagen noch invasionsfähig.

Die Trichinen der beiden Fleischstücke der zweiten Gruppe, aus am 15. Februar 1920 gefütterten und am 23. April desselben Jahres getöteten Tieren herrührend, besaßen in der Mehrzahl eine ausgebildete Kapsel, bei den übrigen war sie in der Vollendung begriffen. Die beiden Stücke im Gewicht von 107,880 und 130,604 g wurden mit 5,394 bzw. 13,060 g Kochsalz bestreut. Die bei den beiden vorhergehenden Versuchsreihen besprochenen regressiven Veränderungen der Trichinen und ihrer Kapseln gelangten hier wesentlich langsamer zum Abschluß, so daß beim schwach gesalzenen Fleisch erst nach 40tägiger und beim stark gesalzenen Fleisch nach 30tägiger Pökelung die Kutikula der Würmer sich gefaltet und geschrumpft und die Kapselmembran sich aufgelöst zeigte. Daher wurde schwach gesalzenes Fleisch erst nach 7 und dann wieder nach 14, 21, 25, 30 und 35 Tagen und stark gesalzenes Fleisch nach 3, 7, 14, 21 und 25 Tagen an je ein Versuchstier (Maus oder Meerschweinchen) verfüttert. Die eingehende mikroskopische Untersuchung aller Versuchstiere ließ nur bei denjenigen Trichinen auffinden, denen 7, 14, 21 und 25 Tage hindurch schwach oder 3 Tage lang stark gesalzenes Fleisch verabreicht worden war.

Somit sterben durchschnittlich 8 Wochen alte Muskeltrichinen in ca. 1,7 cm dicken Fleischstücken zwischen 25 und 30 Tagen ab, wenn diese mit einer dem 20. Teil ihres Gewichtes entsprechenden Kochsalzmenge trocken gepökelt werden, und zwischen 3 und 7 Tagen, wenn dies mit der doppelten Kochsalzmenge geschieht.

Die Trichinen in den beiden Fleischstücken der dritten Gruppe, die sich in am 15. Februar 1920 gefütterten und am 7. Mai desselben Jahres getöteten Tieren entwickelt hatten, zeigten eine gute Ausbildung ihrer Kapseln, an deren Polen häufig schon Fettzellen zu sehen waren. Beide Fleischstücke wogen 157,640 und 170,725 g und wurden mit 7,882 bzw. 17,072 g Kochsalz behandelt. Da hier der Mazerationsprozeß ungefähr mit derselben Schnelligkeit und in derselben Stärke vor sich ging wie bei den beiden vorhergehenden Versuchsreihen, so wurde mit schwach gesalzenem

Fleisch gleichfalls nach 7, 14, 21, 25, 30 und 35 Tagen und mit stark gesalzenem Fleisch ebenfalls nach 3, 7, 14, 21 und 25 Tagen je eine Maus gefüttert. Der mikroskopische Befund ergab trotz genauester Untersuchung nur bei denjenigen Mäusen Muskeltrichinen, die 7, 14, 21 und 25 Tage hindurch schwach oder 3 Tage lang stark gepökeltes Fleisch erhalten hatten.

Folglich sterben durchschnittlich 10 Wochen alte Muskeltrichinen in ca. 2,2 cm dicken Fleischstücken zwischen 25 und 30 Tagen ab, wenn diese mit einer dem 20. Teil ihres Gewichtes entsprechenden Kochsalzmenge trocken gepökelt werden, und zwischen 3 und 7 Tagen, wenn dies mit der doppelten Kochsalzmenge geschieht.

Die Resultate der Versuche lassen sich in folgender Tabelle zusammenstellen.

Alter der Muskeltrichinen:		6 Wochen			8 Wochen		10 Wochen	
Dickendurchmesser der Fleischstücke im Mittel		2,0 cm			1,7 cm		2.2 cm	
Stärke der Pökelung		0 %	5 %	10 %	5 %	10 %	5 %	20 %
Ergebnis nach einer Pökelungsdauer des verfütterten Fleisches von ? Tagen	3	—	pos.	pos.	—	pos.	—	pos.
	7	—	pos.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
	14	—	neg.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
	21	pos.	nèg.	neg.	pos.	neg.	pos.	neg.
	25	—	neg.	—	pos.	neg.	pos.	neg.
	30	—	—	—	neg.	—	neg.	—
	35	pos.	—	—	neg.	—	neg.	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, hat bei jungen, durchschnittlich 6 bis 10 Wochen alten Muskeltrichinen im Falle der starken Pökelung (10%) das Alter derselben einen höchstens ganz geringen Einfluß auf den Zeitpunkt des Absterbens, während im Falle der schwachen Pökelung (5%) das Alter insofern eine Rolle spielt, als die durchschnittlich 6 Wochen alten Muskeltrichinen infolge der noch mangelhaften Ausbildung ihrer Kapseln nur etwa halb so lange lebensfähig bleiben als die sich im übrigen auch der schwachen Pökelung gegenüber gleich verhaltenden durchschnittlich 8 und 10 Wochen alten Muskeltrichinen. Das gleiche Verhalten durchschnitttlich 8 und 10 Wochen alter Muskeltrichinen gegen schwache nud starke Trockenpökelung (5% und 10%) läßt sich nur durch die Annahme erklären, daß die Ausbildung der Trichinenkapsel, die ca. 4 Wochen nach der Infektion beginnt und nach 13 Wochen beendet ist, in der 5. bis 7. Woche ihrer Entstehung — die Muskeltrichinen sind in dieser Zeit durchschnittlich 8 bis 10 Wochen alt — keine wesentlichen Fortschritte macht. Ältere Muskeltrichinen, also Trichinen im Alter von mindestens 12 bis 13 Wochen, mit völlig ausgebildeter Kapsel werden wahrscheinlich bis zum Beginne der Verkalkung der letzteren in ihrem Verhalten gegen Kochsalz keine großen Unterschiede nach ihrem jeweiligen Alter aufweisen.

Das Verhalten von Trichinen mit verkalkten Kapseln gegenüber der Trockenpökelung ist noch nicht bekannt. Solche Trichinen werden wahrscheinlich dem Kochsalzeinflusse viel länger widerstehen. In den in Stuttgart untersuchten amerikanischen Fleischwaren wurden verkalkte Trichinenkapseln nicht beobachtet. Denn weitaus die Mehrzahl der Schweine, von denen die Fleischwaren stammten, können Trichinen mit verkalkten Kapseln nicht besessen haben, da sie bei der Schlachtung lebend nur etwa 160 bis 180 Pfund wogen, also ca. 7 bis 10 Monate alt waren. Dagegen gelangen Fettmastschweine erst in einem Alter von 1½ und Mutterschweine in einem solchen von 6 und mehr Jahren zur Schlachtung; es kann daher jederzeit der Fall eintreten, daß in amerikanischen Fleischwaren verkalkende oder verkalkte Trichinenkapseln festgestellt werden. Die Verkalkung kann nach Leuckart[1]) schon im 6. Mobat nach der Infektion beginnen und Blomn[1]) fand bei zwei Schweinen im Alter von 9 und 12 Monaten schon völlig verkalkte Kapseln.

Was die Höhe des Kochsalzgehaltes der Fleischstücke zur Zeit des Absterbens der Trichinen anbelangt, so ermittelte Nothwang[2]) bei Trockenpökelungsversuchen, in denen er je 100 g Kochsalz für Fleischstücke von 309, 407, 402 und 410 g, also 32. 24, 25 und 24 g Salz auf je 100 g Fleisch verwendet hatte, nach 8 Tagen schon 8,4% und nach 28 Tagen 10,3% Kochsalz im Pökelfleisch. Somit beträgt der für Muskeltrichinen im Alter von 6—10 Wochen tötlich wirkende Salzgehalt jedenfalls nicht mehr als 8,4%, nachdem in meinen Versuchen bei Verwendung von viel kleineren Salzmengen, das heißt nur je 5 bzw. 10 g Kochsalz auf 100 g Fleisch, der sicher geringere Salzgehalt sich schon als tötlich erwiesen hatte.

3. Zusammenfassung.

Die in den gepökelten amerikanischen Schweinefleischwaren enthaltenen Trichinen mit unverkalkten Kapseln sind abgestorben, sofern die Waren stark gepökelt sind.

Umfangreiche Fütterungsversuche mit schwach gepökelten, trichinösen amerikanischen Fleischwaren wären zur vollständigen Klärung der Frage noch anzustellen.

Ebenso bleibt noch die Invasionsfähigkeit von in den amerikanischen Fleischwaren etwa vorhandenen Trichinen mit verkalkten Kapseln zu untersuchen.

Aus meinen Trockenpökelversuchen ergibt sich folgendes:

Junge, durchschnittlich 8 bis 10 Wochen alte Muskeltrichinen erlahmen bei einer starken Pökelung (10 Teile Kochsalz auf 100 Teile Fleisch) überraschend schnell in ihrer Widerstandsfähigkeit, so daß sie schon innerhalb der 1. Pökelwoche abgetötet werden; dagegen zeigen sie bei einer schwachen Pökelung (5 Teile Kochsalz auf 100 Teile Fleisch) eine für ihr Alter

---

1) v. Ostertag, Handb. d. Fleischbeschau, 6. Aufl. 1913, II. Bd., S. 144.

2) Nothwang, Der Salpetergehalt verschiedener Fleischwaren und der Pökelprozeß. Arch. f. Hyg. Bd. 16, 1893, S. 122.

hohe Widerstandsfähigkeit, so daß sie erst nach der 3. Pökelwoche absterben. Durchschnittlich 6 Wochen alte Muskeltrichinen werden weniger durch die Stärke der Pökelung in ihrer Resistenz beeinflußt als vielmehr schon durch die Pökelung an sich und büßen daher selbst bei schwacher Salzung schon in der 2. Pökelwoche ihre Lebensfähigkeit ein.

Somit läßt sich die Abtötung junger, mit noch unvollkommener oder frisch ausgebildeter Kapsel versehener Muskeltrichinen (Muskeltrichinen im Alter von 6 bis 10 Wochen) noch vor Ablauf der ersten Pökelwoche erreichen, wenn 10 Teile Kochsalz auf 100 Teile Fleisch und die Angriffsflächen des Fleisches für Kochsalz sehr groß genommen werden, so daß die ganze Masse des Fleisches in kurzer Zeit von dem Salze durchdrungen wird.